

UNIVERSITE CLAUDE-BERNARD - LYON
- MEDECINE -
U. E. R. GRANGE-BLANCHE

Année 1980 - N° 462

DEFENSE ANTIBACTERIENNE DU POUMON.

**Etude de la MIGRATION LEUCOCYTAIRE
dans le cadre des INFECTIONS
BRONCHOPULMONAIRES RECIDIVANTES.**

A propos d'une méthode in vivo originale.

THESE

présentée

à l'Université Claude-Bernard - LYON

et soutenue publiquement le 28 Novembre 1980

pour obtenir le grade de Docteur en Médecine

par

Yves MONTAIN

Interne des Hôpitaux de Lyon

né le 18 Juin 1950

à BEAUNE (Côte-d'Or)



Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41554207_0044

UNIVERSITE CLAUDE-BERNARD - LYON
- MEDECINE -
U. E. R. GRANGE-BLANCHE

Année 1980 - N°

DEFENSE ANTIBACTERIENNE DU POUMON.

**Etude de la MIGRATION LEUCOCYTAIRE
dans le cadre des INFECTIONS
BRONCHOPULMONAIRES RECIDIVANTES.**

A propos d'une méthode in vivo originale.

THESE

présentée

à l'Université Claude-Bernard - LYON

et soutenue publiquement le 28 Novembre 1980

pour obtenir le grade de Docteur en Médecine

par

Yves MONTAIN

Interne des Hôpitaux de Lyon

né le 18 Juin 1950

à BEAUNE (Côte-d'Or)

UNIVERSITE CLAUDE-BERNARD - LYON

MEDICINE

M. E. R. GRANGE-BLANCHE

Année 1950 - N°

DEFENSE ANTIBACTERIENNE DU POUMON.

Etude de la migration leucocytaire

dans le cadre des infections

BRONCHOPULMONAIRES RECIDIVANTES.

A propos d'une méthode in vivo originale.



THÈSE

présentée

à l'Université Claude-Bernard - LYON

et soutenue publiquement le 28 Novembre 1950

pour obtenir le grade de Docteur en Médecine

par

Yves MONTAIN

né le 13 Juin 1920

à BEAUNE (Côte-d'Or)

UNIVERSITE CLAUDE BERNARD - LYON I

Président de l'Université : Professeur D. GERMAIN
Vice-Président : Professeur M. DUFAY
Deuxième Vice-Président : Monsieur J.C. DUPLAN
Troisième Vice-Président : Mademoiselle A. ECHALON
Secrétaire Général : Monsieur J. RAMBAUD

UNITES D'ENSEIGNEMENT ET DE RECHERCHE DE L'UNIVERSITE

MEDECINE : Grange-Blanche : Directeur : Professeur P. ZECH
 Alexis Carrel : Directeur : Professeur R. MORNEX
 Lyon Sud : Directeur : Professeur J. NORMAND
 Lyon Nord : Directeur : Docteur Y. MINAIRE (M.C.A.)

BIOLOGIE HUMAINE : Directeur : Docteur J.P. REVILLARD (M.C.A.)

TECHNIQUE DE READAPTATION : Directeur : Professeur A. MORGON

SCIENCES PHARMACEUTIQUES : Directeur : Professeur C.A. BIZOLLON

SCIENCES ODONTOLOGIQUES : Directeur : Professeur J. PARRET

INSTITUT REGIONAL D'EDUCATION PHYSIQUE ET SPORTIVE :
 Président du conseil d'U.E.R. :
 Docteur J.J. COMTET (M.C.A.)

MATHEMATIQUES : Directeur : Professeur P. PICARD

PHYSIQUE : Directeur : Professeur J. DELMAU

CHIMIE ET BIOCHIMIE : Directeur : Madame A. VARAGNAT

SCIENCES DE LA NATURE : Directeur : Professeur Y. LEMOIGNE

SCIENCES PHYSIOLOGIQUES : Directeur : Melle le Professeur J.F. WORBE

INSTITUT UNIVERSITAIRE
DE TECHNOLOGIE N° 1 : Directeur : Professeur A. VILLE

INSTITUT UNIVERSITAIRE
DE TECHNOLOGIE N° 2 : Directeur : Mr. J. GALLET (Directeur ENSAM)

PHYSIQUE NUCLEAIRE : Directeur : Professeur GUSAKOW

MECANIQUE : Directeur : Melle le Professeur COMTE-BELLO

OBSERVATOIRE : Directeur : Mr. G. MONNET (Astronome)

EXAMINATEURS DE LA THESE :

Président : Monsieur le Professeur PERRIN FAYOLLE M.

Assesseurs : Monsieur le Professeur CARRAZ M.

Monsieur le Professeur BRUNE J.

Monsieur le Professeur GUERIN J.C.

Monsieur le Docteur LAURENT P.

AU SOUVENIR

DE MON PERE

ET

A TOUS CEUX

QUI ME SONT CHERS

A Monsieur le Professeur M. PERRIN FAYOLLE ,

Notre Maître d'internat pendant un an , instigateur de ce travail particulièrement enrichissant , nous l'assurons de notre profonde gratitude et de notre entier dévouement.

A Monsieur le Professeur M. CARRAZ ,

Sa présence dans ce Jury est pour nous un honneur et , en le remerciant de sa bienveillance à notre égard , nous le prions de croire à notre respectueuse admiration.

A Monsieur le Professeur J. BRUNE ,

Nous avons eu le privilège de suivre son enseignement à la Faculté puis à l'Hôpital et nous sommes heureux de lui témoigner aujourd'hui notre vive reconnaissance.

A Monsieur le Professeur J.C. GUERIN ,

Très touché par son accueil , nous le remercions de l'intérêt qu'il veut bien porter à ce travail et nous nous réjouissons de passer un semestre d'internat à ses côtés.

A Monsieur le Docteur P. LAURENT ,

Nous le remercions d'avoir mis ses travaux à notre disposition et nous lui sommes très reconnaissant pour l'aide amicale et passionnée qu'il nous a apportée dans la réalisation de notre thèse.

A Monsieur le Docteur Bernard MONTAGNON

et

A Monsieur le Docteur Yves PACHECO ,

avec toute notre amitié .

A Madame D. PILERI , Infirmière ,

avec tous nos remerciements

pour sa collaboration efficace .

A tout le Personnel

du Pavillon DUFOURT

de l'Hôpital STE EUGENIE .

P L A N

INTRODUCTION

PREMIERE PARTIE : LE POUMON DEVANT L'INFECTION

A - MOYENS DE DEFENSE ANTIBACTERIENNE DU POUMON

A.1 - LE COMPARTIMENT TRACHEOBRONCHIQUE

a - MOYENS DE DEFENSE DE SURFACE

- a.1 - le tapis mucociliaire
- a.2 - les proteases
- a.3 - les immunoglobulines

b - MOYENS DE DEFENSE TISSULAIRES

- b.1 - description des facteurs cellulaires et humoraux
 - b.1.1 - les facteurs cellulaires
 - b.1.1.1 - les cellules phagocytaires
 - b.1.1.2 - les lymphocytes
 - b.1.2 - les facteurs humoraux
 - b.1.2.1 - protéines sériques non spécifiques
 - b.1.2.2 - immunoglobulines sériques
 - b.2 - inflammation, complément et phagocytose
 - b.2.1 - généralités
 - b.2.2 - événements vasculaires et périvasculaires de la réaction inflammatoire aigue
 - b.2.3 - le système du complément
 - b.2.3.1 - la réaction complémentaire
 - 1) la voie classique
 - 2) la voie alterne
 - b.2.3.2 - rôles du complément dans l'inflammation et la phagocytose
 - b.2.3.3 - complément et infection bactérienne
 - b.2.4 - la phagocytose
 - b.2.4.1 - conditions de la phagocytose
 - b.2.4.2 - déroulement de la phagocytose
 - b.2.4.3 - exploration de la phagocytose et de la bactéricidie
- annexe : structure et métabolisme des prostaglandines

A.2 - LE COMPARTIMENT BRONCHIOLOALVEOLAIRE

a - EPURATION ALVEOLAIRE MECANIQUE

b - MOYENS DE DEFENSE TISSULAIRES

B - MISE EN JEU ET FAILLITE DES MOYENS DE DEFENSE : L'ETAT INFECTIEUX PULMONAIRE

DEUXIEME PARTIE : LA MIGRATION LEUCOCYTAIRE

I - DIFFERENTS ASPECTS DE LA LOCOMOTION LEUCOCYTAIRE

- 1) LA LOCOMOTION AU HASARD (random locomotion)
- 2) LA CHIMIOCINESIE (chemokinesis)
- 3) LA CHIMIOTAXIE (chemotaxis)

II - MOYENS D'ETUDE DE LA LOCOMOTION LEUCOCYTAIRE

a - METHODES D'ETUDE IN VITRO

- a.1 - observation directe des cellules en mouvement
- a.1.1 - analyse visuelle de la chimiocinésie
- a.1.2 - analyse visuelle de la chimiotaxie
- a.2 - analyse indirecte par chambre de migration
- a.2.1 - description
- a.2.2 - application clinique : test des cellules

b - METHODES D'ETUDE IN VIVO

III - FACTEURS CHIMIOTACTIQUES

- 1) FACTEURS CHIMIOTACTIQUES DERIVES DU COMPLEMENT
- 2) PEPTIDES CHIMIOTACTIQUES D'ORIGINE BACTERIENNE
- 3) FACTEURS CHIMIOTACTIQUES MIS EN JEU PAR LA REACTION INFLAMMATOIRE
 - a - dérivés chimiotactiques des systèmes de la coagulation, de la fibrinolyse et des kallikreines
 - b - molécules lipidiques chimiotactiques apparentées aux prostaglandines
 - c - facteurs chimiotactiques libérés par les cellules phagocytaires elles-mêmes
- 4) LYMPHOKINES CHIMIOTACTIQUES
- 5) CHIMIOTAXIE LIEE A L'ANTIGENE LUI-MEME

IV - PHYSIOLOGIE CELLULAIRE DE LA CHIMIOTAXIE

- a - physiologie de l'orientation cellulaire
- b - physiologie du déplacement cellulaire

V - REGULATION DE LA CHIMIOTAXIE

- a - régulation portant sur les facteurs chimiotactiques
- b - régulation portant sur les cellules phagocytaires

VI - ANOMALIES DE LA CHIMIOTAXIE

- 1) ANOMALIES CELLULAIRES INTRINSEQUES
- 2) DEFAUT DE PRODUCTION DE FACTEURS CHIMIOTACTIQUES
- 3) PRESENCE D'INHIBITEURS CIRCULANTS DE LA CHIMIOTAXIE

TROISIEME PARTIE : OBSERVATIONS PERSONNELLES

A - MATERIELS ET METHODES

- 1) La population étudiée
- 2) L'étude de la migration leucocytaire
- 3) La vaccination antibactérienne
- 4) Le protocole de l'expérimentation pharmacoclinique
- 5) Les témoins

B - RESULTATS

- 1) Données numériques
- 2) Répartition des populations
- 3) Distribution des populations
- 4) Etude analytique
- 5) Résultats comparatifs in vitro / in vivo

C - DISCUSSION

CONCLUSIONS

INTRODUCTION

L'idée de ce travail est née de l'expérimentation dans un service de pneumologie d'une technique d'étude de la migration leucocytaire in vivo (mise au point par P. LAURENT de l'Institut PASTEUR de LYON) chez des sujets présentant une pathologie infectieuse respiratoire à pyogènes.

A cette occasion, il nous a paru intéressant, après avoir situé la fonction phagocytaire des leucocytes au sein des divers moyens de défense antibactérienne du poumon, de réaliser une étude bibliographique des modes de déplacement des leucocytes vers le lieu de leur intervention, et de rechercher les éventuelles modifications de cette migration leucocytaire chez des sujets présentant des infections bactériennes bronchopulmonaires récidivantes, spontanément puis sous l'effet d'une vaccination antibactérienne. Nous envisagerons donc successivement :

1ère Partie : Le Poumon devant l'infection

- A - Moyens de défense antibactérienne du poumon
 - . compartiment trachéobronchique
 - . compartiment bronchioloalvéolaire
- B - Mise en jeu et faillite des moyens de défense :
l'état infectieux pulmonaire.

2ème Partie : La migration leucocytaire

- I - Différents aspects de la locomotion leucocytaire
- II - Moyens d'étude de la locomotion leucocytaire
 - in vitro
 - in vivo
- III - Facteurs chimiotactiques
- IV - Physiologie cellulaire de la chimiotaxie
- V - Régulation de la chimiotaxie
- VI - Anomalies de la chimiotaxie

3ème Partie : Observations personnelles

PREMIERE PARTIE
LE POUMON DEVANT L'INFECTION

Le fait que l'exposition de l'organisme à un agent infectieux pathogène ne s'accompagne pas obligatoirement d'un état morbide témoigne d'une capacité de résistance de l'hôte vis à vis de l'agresseur. Les facteurs susceptibles de protéger l'organisme contre l'infection sont nombreux, souvent complexes et volontiers intriqués, de sorte que la distinction classique entre moyens non spécifiques et moyens spécifiques de défense est purement schématique. La défense antibactérienne du poumon s'intègre dans le cadre de la défense antimicrobienne en général avec certaines particularités sur le plan local.

En effet, les germes responsables des infections bronchopulmonaires sont en règle générale apportés par voie aérienne et cette aérocontamination microbienne réalise un aspect très particulier de pollution particulaire organique au niveau de structures bronchiques et alvéolaires remarquables par leur étendue (100 m^2 environ). Or, contrastant avec la richesse microbienne de l'air inspiré et des cavités bucco-nasales, l'air circulant au niveau de l'appareil respiratoire sous glottique est, chez le sujet sain, pratiquement stérile (cela s'entend en culture et ne signifie donc pas que des germes ne puissent y parvenir, malgré la grande efficacité du filtre nasopharyngé). Cette étonnante capacité d'épuration de l'ensemble bronche-parenchyme témoigne de la puissance des moyens de défense antibactérienne mis en jeu qui sont caractérisés en outre par la constance de leur mise en oeuvre, par certaines particularités mécaniques, humorales et cellulaires, et par leur relative autonomie sur le plan immunitaire. Dans ce sens, l'état infectieux pulmonaire traduit leur faillite.

Pour les étudier (22 - 23), nous distinguerons deux compartiments qui diffèrent par leurs structures et leur mode d'intervention : le compartiment trachéobronchique et le compartiment bronchioloalvéolaire.

A.1 - LE COMPARTIMENT TRACHEOBRONCHIQUE

Pour qu'un agent pathogène infecte un être vivant, il est nécessaire qu'il franchisse les barrières anatomiques qui s'opposent à sa pénétration. Pour que l'infection devienne maladie, il est nécessaire qu'il survive et se multiplie malgré les défenses humorales et cellulaires de l'organisme infecté. Ces divers éléments se groupent en 2 lignes de défense successives : les moyens de défense de surface et les moyens de défense tissulaires.

① - MOYENS DE DEFENSE DE SURFACE (2c - 9 - 42)

L'agent infectant parvenu dans les voies respiratoires sous-glottiques se trouve confronté, au niveau de l'épithélium tapissant étroitement les conduits aériens, à un formidable système de défense comportant essentiellement le tapis mucociliaire, des proteases et des immunoglobulines.

a.1 - le tapis mucociliaire

Comme toute particule inhalée, les bactéries sont soumises, en fonction de leur forme et de leur taille (qui se situe dans l'ensemble entre 1 et 10 microns) à des procédés physiques d'épuration depuis les voies respiratoires supérieures jusqu'au poumon profond. Après le filtre nasopharyngé dont l'efficacité est maximale pour les grosses particules de 10 microns et plus (qui sont éliminées avec les sécrétions nasales ou dirigées vers la voie digestive), intervient le système d'épuration trachéobronchique. A ce stade, la dichotomie bronchique s'oppose à un écoulement aérien laminaire et crée, au niveau des éperons, des turbulences génératrices d'impact particulaire, surtout pour les particules de diamètre aérodynamique compris entre 3 et 10 microns qui sont alors

soumises au responsable local de l'épuration, le tapis mucociliaire, pour être éliminées ensuite avec les sécrétions bronchiques par voie digestive ou bien avec l'expectoration.

- les cils de la muqueuse respiratoire, implantés sur la surface cuticulaire des cellules épithéliales, sont constitués de 9 filaments entourant un double filament axial et enveloppés d'une membrane plasmique qui est un prolongement de la membrane cellulaire; longs de 4 à 6 microns, ils sont à peu près parallèles à la surface de l'épithélium bronchique en position de repos et leur contraction les relève de façon synchrone pour réaliser des mouvements comparables à la production de vagues successives. Cette activité ciliaire est automatique (pouvant persister après suppression de la vascularisation et de l'innervation des cellules ciliées) mais sa fréquence diminue dans diverses circonstances qui favorisent donc la pénétration des aérocontaminants : basse température, faible degré hygrométrique, anomalies de la pression osmotique du mucus, anomalies du pH, de l'équilibre ionique, de la pression partielle d'oxygène (l'anoxie inhibe le mouvement ciliaire qui est dépendant d'un mécanisme énergétique aérobie consommant de l'ATP)...

- cette activité mécanique des cils s'exerce au sein d'une sécrétion séreuse fluide (provenant des glandes séreuses de la sous-muqueuse) qui entraîne par son glissement progressif une couche muqueuse superficielle plus épaisse (provenant des glandes muqueuses de la sous-muqueuse et des cellules caliciformes de l'épithélium de surface) sur laquelle viennent se fixer les particules inhalées. Les propriétés viscoélastiques de ce gel de surface sont essentielles, liées notamment à sa structure microfibrillaire de mucopolysaccharides riches en acide hyaluronique (ce qui explique que l'hyaluronidase produite par certaines bactéries permette une extension rapide de l'infection). Cette sécrétion séromuqueuse bronchique se trouve majorée dans toutes les infections bactériennes ainsi que dans diverses bronchopathies chroniques qui associent à des degrés variables une augmentation de la sécrétion bronchique, une modification dans la composition de cette sécrétion, parfois une métaplasie malpighienne, l'ensemble aboutissant à une réduction voire une disparition de l'activité mucociliaire.

L'effondrement de la clearance particulaire qui s'en suit favorise la stase microbienne qui aggrave à son tour l'encombrement bronchique et la dégradation des structures bronchiques sous jacentes, instaurant ainsi un véritable cercle vicieux. (cette aggravation est maximale dans les dystrophies bronchiques congénitales ou acquises).

Enfin, la destruction passagère de l'épithélium de surface par les infections virales facilite également l'agression bactérienne secondaire et explique en partie la fréquence des surinfections des viroses respiratoires.

a.2 - les proteases

Dès leur contact avec la surface bronchique, les bactéries peuvent voir leur paroi attaquée par certaines proteases provenant des cellules phagocytaires présentes dans les tissus sous jaccents et représentées essentiellement par le lysozyme et des protéines cationiques. Le lysozyme est une protéine basique douée d'activité mucolytique à l'égard des complexes mucopeptidiques de la paroi bactérienne dont il peut couper la liaison existant entre la n-acetylglucosamine et l'acide n-acetylmuramique; son activité bactéricide est cependant faible contre la majorité des bactéries virulentes. Par ailleurs, des protéines basiques telles que la beta lysine sont susceptibles de lyser la membrane cellulaire de certaines bactéries à la façon d'un détergent cationique.

a.3 - les immunoglobulines (Ig)

Les cinq classes d'immunoglobulines, bien étudiées et aisément dosées au niveau du sérum, ont également été isolées au niveau des sécrétions externes et notamment de la sécrétion bronchique mais dans des proportions différentes et avec une forme très particulière représentée par l'Ig A sécrétoire. Ainsi, l'Ig A qui ne représente que 10 à 15% des Ig sériques est la classe prédominante dans les sécrétions qui baignent les revêtements muqueux en communication avec le milieu extérieur (environ 80%) où elle se présente en majorité sous forme sécrétoire; il existe également un petit contingent d'Ig M de type sécrétoire. Ces immunoglobulines, normalement présentes au niveau du mucus bronchique, sont élaborées par des cellules plasmocytaires situées surtout dans les régions périglandulaires de la sous-muqueuse où elles proviennent de la différenciation de lymphocytes locaux.

L'originalité de la S-Ig A repose sur sa structure dimère constante (avec réunion de deux monomères par une chaîne J sécrétée par les mêmes cellules plasmocytaires) et sur la présence d'un composant sécrétoire SC, structure glyco-protéique possédant plusieurs déterminants antigéniques et qui leur confère une remarquable résistance à l'action des proteases de tous types, endogènes et exogènes (bactériennes), contenues dans le mucus. Ce fragment SC est produit par les cellules épithéliales et est présent sur leurs membranes. Il semble que les molécules Ig A (et Ig M) ayant traversé la membrane basale acquièrent ce composant SC en pénétrant dans les cellules épithéliales dont elles seront expulsées ensuite par exocytose pour aller s'incorporer au mucus (en s'adsorbant en particulier sur la mucine); en effet, les espaces intercellulaires qui séparent les cellules épithéliales sont obturés à leur partie supérieure proche de la lumière par des desmosomes réalisant une membrane imperméable à des molécules aussi grosses.

L'immunité spécifique apportée par les Ig A semble jouer un rôle essentiel dans la défense contre de nombreuses infections locales. En effet, des animaux élevés en atmosphère stérile apparaissent comme à peu près dépourvus de plasmocytes Ig A sécréteurs; après contact microbien, on trouve au niveau des muqueuses respiratoires tous les intermédiaires entre lymphocyte jeune et plasmocyte mature, lequel élabore des quantités considérables d'Ig A. A côté de leur action neutralisante sur les virus, les S-Ig A auraient une action antibactérienne en particulier en diminuant l'adhésivité des bactéries aux cellules épithéliales et en activant la voie alterne du complément (les divers facteurs sériques doués d'activité anti-infectieuse comme le complément sont en effet présents à faible concentration dans toutes les sécrétions muqueuses et les espaces extracellulaires). Des taux élevés d'Ig A sécrétoire ont été observés dans les bronchites aiguës ou subaiguës mais pas dans les bronchites chroniques où l'altération de l'épithélium ne permettrait plus la production du composant sécrétoire (alors que la densité des plasmocytes de la sous-muqueuse reste normale).

A noter enfin que la carence en S-Ig A ne s'accompagne pas obligatoirement d'infection, sans doute par production compensatrice, locale et générale, d'autres immunoglobulines (Ig M, Ig G).

(b) - MOYENS DE DEFENSE TISSULAIRES (2c - 2e)

Lorsque l'agresseur bactérien parvient à franchir la première ligne de défense et pénètre dans les tissus, il y déclenche un ensemble de modifications constituant la réaction inflammatoire qui permet l'intervention de facteurs de défense cellulaires et humoraux étroitement liés entre eux.

+ b.1 - description des facteurs cellulaires et humoraux

+ + b.1.1 - les facteurs cellulaires sont représentés par les cellules phagocytaires et les lymphocytes :

+ + + b.1.1.1 - les cellules phagocytaires (2a - 16) : ce sont des cellules capables d'ingérer et, dans certaines conditions, de digérer des particules inertes ou vivantes en intervenant directement au site de l'agression. Ce phénomène fondamental dans la défense antiinfectieuse de l'organisme, dénommé "phagocytose" par METCHNIKOFF qui le décrivit magistralement à la fin du 19ème siècle *, repose sur deux types de cellules : les polynucléaires (surtout neutrophiles et accessoirement eosinophiles) et des cellules mononucléées : les macrophages, dérivés tissulaires des monocytes circulants.

* "En résumant cet aperçu de nos connaissances actuelles des leucocytes, nous devons conclure que les 2 variétés de ces cellules qui jouent le rôle principal dans l'inflammation, les leucocytes mononucléaires et les neutrophiles, sont des éléments doués d'une sensibilité chimiotactique et physiotactique très considérable, capables de mouvements amiboïdes et aptes à englober et à digérer différents corps étrangers, notamment beaucoup de microbes vivants".

Elie METCHNIKOFF : Leçons sur la pathologie comparée de l'inflammation - (MASSON et Compagnie PARIS 1892).

Une fonction phagocytaire normale implique à la fois un nombre suffisant et une structure correcte des cellules phagocytaires. Au point de vue cinétique cellulaire, les phagocytes proviennent des cellules souches de la moelle osseuse : les polynucléaires sont issus d'une lignée granulocytaire comportant d'abord une phase de prolifération pendant laquelle la cellule souche donne naissance successivement aux myeloblastes, promyelocytes, myelocytes et métamyelocytes puis une phase de maturation où se produit la transformation des métamyelocytes en polynucléaires neutrophiles, éosinophiles et basophiles selon les caractères tinctoriaux de leurs granulations; les polynucléaires matures passent alors dans le sang où ils se répartissent en un pool circulant et un pool marginal et, à l'occasion d'une inflammation, ils traversent les vaisseaux par diapédèse pour gagner les espaces extravasculaires où leur destinée n'est que de quelques jours. Les monocytes quant à eux proviennent des cellules souches de la moelle osseuse par l'intermédiaire des promonocytes; ils ne restent que quelques heures dans la circulation et passent par diapédèse dans les tissus où ils se différencient en macrophages (par augmentation de la taille et des propriétés enzymatiques) sous diverses appellations : cellules de Küppfer du foie, macrophages péritonéaux, pleuraux et alvéolaires, histiocytes du tissu conjonctif, macrophages des réactions inflammatoires; ils peuvent se diviser dans certaines conditions et leur durée de vie dans les tissus est de plusieurs semaines ou mois. Au point de vue structure, polynucléaires et macrophages sont caractérisés schématiquement par de nombreux prolongements membranaires, par la présence de vacuoles de taille variable, par l'abondance de granulations ou lysosomes riches en enzymes et par l'existence de structures contractiles jouant un rôle dans leur motilité. Les polynucléaires interviennent les premiers au site de l'agression et assurent une dégradation complète du microorganisme phagocyté; leur intervention massive leur est souvent fatale, aboutissant à la formation de pus. Les macrophages interviennent secondairement et sont capables, contrairement aux polynucléaires, de fournir par une dégradation ménagée une information antigénique aux cellules immunocompétentes (reverse endocytosis). A

l'ancienne notion de système réticuloendothélial qui regroupait diverses cellules douées d'activité macrophagique sans unité précise, se substitue maintenant celle de "système des phagocytes mononucléés" selon la conception de VAN FURTH (62).

+ + + b.1.1.2 - les lymphocytes : au niveau des voies trachéo-bronchiques se trouve un véritable tissu lymphoïde constitué d'une part de nodules lymphoïdes (B.A.L.T.) distribués dans la sous-muqueuse et d'autre part d'amas lymphocytaires en étroite connection avec l'épithélium respiratoire qui les recouvre (lymphoépithélium). Ces structures servent de zone de transit et de maturation aux lymphocytes émanant de la circulation générale qui vont, pour certains, coloniser la sous-muqueuse alentour et s'y transformer en plasmocytes dévolus à la sécrétion d'immunoglobulines (surtout Ig A mais aussi Ig M, Ig G ..). En effet, les lymphocytes participent à la défense contre les infections dues à des bactéries à multiplication extracellulaire surtout par la production d'anticorps à partir de ces plasmocytes dérivant des cellules B alors que les bactéries à parasitisme intracellulaire facultatif font plutôt intervenir l'action cytotoxique directe des cellules T. En outre, les cellules B et T sont capables de produire des médiateurs ou lymphokines agissant entre autre sur les cellules phagocytaires et notamment sur leur migration. Enfin, les macrophages sont capables de fournir une information antigénique aux lymphocytes, ceci soulignant l'importance de la coopération lymphocyte - macrophage.

+ + b.1.2 - les facteurs humoraux agissent soit pour leur propre compte soit surtout pour favoriser l'intervention des cellules phagocytaires qui par elles-mêmes ne peuvent rien. Ce sont :

+ + + b.1.2.1 - des protéines sériques non spécifiques : composants du complément surtout, et aussi C Reactive Proteine, lysozyme, antiprotéinases comme l'antitrypsine ou l'anti-hyaluronidase qui sont des inhibiteurs naturels des protéinases produites par les agents bactériens (à noter qu'il existe également des protéinases endogènes produites notamment par les cellules phagocytaires et ces enzymes contribuent, lorsqu'ils ne sont pas inhibés, aux lésions destructrices locales touchant la basale des vaisseaux et le tissu interstitiel avoisinant).

+ + + b.1.2.2 - des immunoglobulines sériques agissant surtout sur les bactéries à multiplication extracellulaire par opsonisation (renforcement de la phagocytose) et par fixation du complément; dans ce dernier cas, l'activation des diverses fractions du complément peut avoir des effets sur la réaction inflammatoire (par action anaphylatoxinique), sur la phagocytose (par action chimiotactique, immunoadhérence et opsonisation) et aussi sur la bactéricidie (par action cytolytique). Néanmoins, le complément peut être activé sans l'intervention des anticorps (cf suite).

+ b.2 - inflammation, complément et phagocytose

+ + b.2.1 - généralités (2c)

L'inflammation, originellement définie par ses signes cardinaux (érythème, oedème, douleur et chaleur) représente la réponse de l'organisme à des agressions variées par des mécanismes divers impliquant des facteurs neurologiques, vasculaires, humoraux et cellulaires. La mise en jeu et les interrelations des divers événements constituant le processus inflammatoire sont particulièrement complexes :

- Une agression tissulaire, produite notamment par des agents infectieux, entraîne en premier lieu une vasodilatation suivie très vite d'une augmentation de la perméabilité vasculaire; cette dernière est souvent associée à une altération des cellules endothéliales des capillaires.
- l'altération des cellules endothéliales des capillaires est à l'origine de l'adhésion des plaquettes sanguines et de leur agrégation, ainsi que de l'adhésion des leucocytes. L'agrégation plaquettaire coïncide avec le début de la séquence normale d'activation des différentes étapes de la coagulation sanguine au cours de laquelle seront libérés des médiateurs participant à l'établissement de la réaction inflammatoire.
- après avoir adhéré à la paroi vasculaire, les leucocytes passent à travers les vaisseaux dans les espaces extra-vasculaires : c'est la diapédèse. Les leucocytes (surtout les polynucléaires et plus tardivement les monocytes et les lymphocytes) se dirigent, sous l'effet de certains facteurs

attractants, vers les tissus altérés ou vers l'agent causal de l'inflammation. Au cours de leur séjour extravasculaire, les polynucléaires libèrent les produits de leur métabolisme ou de leur lyse à savoir des enzymes et diverses substances participant à la réponse inflammatoire. Les monocytes sont également attirés hors des vaisseaux où ils se transforment en macrophages et les produits résultant du métabolisme ou de la lyse des macrophages renforcent encore la réaction inflammatoire. Contrairement aux polynucléaires et aux monocytes, peu de lymphocytes sont présents dans les foyers inflammatoires d'origine bactérienne, sauf conditions particulières.

- parallèlement à la diapédèse des leucocytes a lieu une exsudation plasmatique qui contribue fortement à l'oedème et apporte différents facteurs au site de l'inflammation, notamment des facteurs de la coagulation et des composants du complément qui contribuent à entretenir l'inflammation.
- enfin, la modification du système lymphatique au niveau du foyer inflammatoire permet le passage dans la circulation de substances qui vont déterminer une activation des organes producteurs des facteurs humoraux et cellulaires de défense (comme les endopyrogènes libérés par les phagocytes et agissant par l'intermédiaire de l'hypothalamus). Ainsi, la création d'une inflammation locale s'accompagne d'une différenciation préférentielle des cellules souches de la moelle osseuse vers les leucocytes (d'où la leucocytose habituelle des états infectieux). Dans le même sens, dans les heures qui suivent l'induction d'une réaction inflammatoire, il se produit une synthèse accrue de certaines protéines sériques d'origine hépatique : ces protéines de la phase aigue de la réaction inflammatoire sont essentiellement l'orosomucoïde, l'alpha1 antitrypsine, la céruloplasmine, le fibrinogène, l'haptoglobine et la C Reactive Proteine (les composants du complément et en particulier le C3 ne font pas classiquement partie du groupe des protéines de la réponse inflammatoire aigue bien que leur participation y soit essentielle).

Telles sont les différentes étapes de la réaction inflammatoire aiguë qui aboutissent à l'élimination de l'agent causal. Lorsque le but est atteint, l'étape de cicatrisation est marquée par une prolifération de fibroblastes et une synthèse de collagène. Si l'agent causal de l'inflammation est difficilement résorbable, la réaction macrophagique est alors plus importante et, dans certaines conditions (comme avec les germes à parasitisme intracellulaire) une accumulation de cellules lymphocytaires peut apparaître. Il y a alors passage d'une inflammation aiguë à une inflammation chronique (sortant du cadre de notre étude).

+ + b.2.2. - événements vasculaires et périvasculaires de la réaction inflammatoire aiguë

- vasodilatation et augmentation de la perméabilité capillaire
La phase initiale de la réaction inflammatoire au lieu de l'agression tissulaire est marquée par la libération de médiateurs agissant sur les vaisseaux pour favoriser l'exsudation plasmatique et la diapédèse des leucocytes. L'histamine, libérée par les mastocytes, entraîne par un mécanisme réflexe une vasodilatation et une augmentation de la perméabilité capillaire, de même que la sérotonine ou 5 hydroxy tryptamine libérée par les plaquettes et aussi les mastocytes. Les kinines sont des polypeptides capables également d'entraîner une vasodilatation et une augmentation de la perméabilité capillaire; la principale, la bradykinine, provient de la dégradation d'une alpha2 globuline, le kininogène, par une protéase, la kallikreine provenant elle-même d'une pré-kallikreine ou kallikreinogène sous l'influence d'une lésion tissulaire (et éventuellement du facteur Hageman activé). En outre, le tonus vasculaire est soumis à l'action antagoniste des prostaglandines, la prostacycline PG I₂ ayant une action vasodilatatrice alors que les endopéroxydes et le thromboxane TX A₂ sont vasoconstricteurs.

NB : un rappel de la structure et du métabolisme des prostaglandines est présenté en annexe page 35

— agrégation plaquettaire

Une altération aussi minime soit elle des cellules endothéliales des capillaires entraîne aussitôt l'adhésion des plaquettes aux fibres de collagène mises à nu ou au sous endothélium. Les plaquettes qui ont adhéré gonflent, s'homogénéisent et libèrent une partie de leur contenu ("release" en particulier d'ADP et de sérotonine). Sous l'influence de l'ADP, les plaquettes s'agrègent alors, cette agrégation étant accélérée par les premières traces de thrombine formée par le début de la coagulation. En outre, les prostaglandines interviennent également sur l'agrégation plaquettaire par le biais de l'AMP cyclique; en effet, l'adhésion plaquettaire s'accompagne d'une activation membranaire aboutissant à la libération d'arachidonate et à la formation de produits labiles doués d'activité agrégante : les endopéroxydes et le thromboxane TX A₂ qui diminuent le taux d'AMP cyclique endoplaquettaire; par une coopération de nature biochimique, les cellules endothéliales transforment les endopéroxydes en un inhibiteur des fonctions plaquettaires, la prostacycline PG I₂ qui augmente au contraire la concentration d'AMP cyclique plaquettaire, s'opposant ainsi à l'extension du thrombus plaquettaire (15 - 58b).

— margination et diapédèse des leucocytes

La margination leucocytaire apparaît peu après l'agrégation plaquettaire qui favorise l'adhésion des leucocytes à la paroi vasculaire. Une fois fixés sur les cellules endothéliales, les leucocytes peuvent, si l'inflammation est assez importante, traverser les vaisseaux : c'est la diapédèse au cours de laquelle les polynucléaires surtout mais aussi les monocytes et plus ou moins les lymphocytes s'insinuent entre les cellules endothéliales, perforent la membrane basale du capillaire et parviennent ainsi dans les espaces extravasculaires. La nature particulière des espaces extravasculaires (fibres de collagène et fibres élastiques, mucopolysaccharides) favorise le déplacement de ces cellules en direction de l'agent causal de l'inflammation. Parmi les nombreux facteurs chimiotactiques intervenant alors, certains sont mis en jeu par les prostaglandines encore (HETE surtout) et par les systèmes de la coagulation et de la fibrinolyse (cf 2ème partie).

— coagulation (17 - 30)

La formation du thrombus plaquettaire s'accompagne au niveau de la lésion vasculaire du commencement de la coagulation qui aboutit, par le biais de la thrombine, à la transformation du fibrinogène en fibrine. Or, la présence de dépôt de fibrine au sein même des lésions inflammatoires a toujours suggéré l'existence d'une relation étroite entre la réaction inflammatoire et les mécanismes de la coagulation. In vitro, la coagulation est provoquée soit par le contact du plasma avec le verre (activant le facteur Hageman ou facteur XII de la coagulation) soit par l'action du facteur tissulaire de la coagulation (qui est trouvé en abondance au niveau des cellules endothéliales). In vivo, selon des données récentes (30) c'est le facteur tissulaire qui joue le rôle principal dans le déclenchement du système enzymatique de la coagulation et sa production apparaît possible à partir des cellules phagocytaires impliquées dans la réaction inflammatoire :

. facteur tissulaire et coagulation

La coagulation du sang s'effectue normalement en 6 à 8 minutes dans un tube de verre et beaucoup plus lentement au contact d'autres surfaces (revêtement de silicone, plastique..). Cependant, si le sang est recueilli en présence de broyats de différents tissus (cerveau, poumon, placenta), il coagule en 12 à 15 secondes quelle que soit la nature de la surface. Ces faits définissent d'une part la voie intrinsèque de la coagulation in vitro, déclenchée par le contact, et d'autre part la voie extrinsèque de la coagulation déclenchée par les extraits tissulaires. La rapidité de la coagulation en présence d'extraits tissulaires, court circuitant l'action du contact, est le fait d'un complexe lipoprotéique dit facteur tissulaire FT de la coagulation, encore appelé thromboplastine tissulaire ou facteur III. Le composant protéique et le composant phospholipidique sont isolément inactifs et leur recombinaison restaure l'activité biologique du facteur tissulaire : les phospholipides constituent avec le plasma une interface favorable au développement des réactions enzymatiques qui aboutissent à la formation de la thrombine (ils sont utilisés en laboratoire sous le nom de "céphaline" comme substitut du facteur 3 plaquettaire).

la sous unité protéique du FT (apoprotéine III) est une glycoprotéine dont les glucides sont ceux qui entrent habituellement dans la composition des protéines de membrane, ce qui est un argument en faveur de la localisation du FT dans les membranes cellulaires. La purification du facteur tissulaire a permis de préciser son mécanisme d'action : le FT forme avec le facteur VII de la coagulation un complexe dans lequel le facteur VII est activé, par une modification conformationnelle réversible, en une protéase. Ce complexe enzymatique active le facteur X et ouvre ainsi la voie extrinsèque classique de la coagulation. De plus, le complexe FT - facteur VII active également le facteur IX (qui pourrait aussi subir une rétroactivation par le facteur X activé). Ceci permet de concevoir une nouvelle représentation schématique de la coagulation in vitro (cf FIGURE I). In vivo, l'absence de syndrome hémorragique dans les déficits congénitaux en facteur XII, en prékallikreine et en kininogène suggère le rôle secondaire du contact dans l'hémostase; ceci peut paraître paradoxal face à la gravité du syndrome hémorragique exprimant le déficit en facteur VIII ou IX dans les hémophilies A ou B mais le fait que le complexe FT - facteur VII active également le facteur IX selon les données nouvelles fait disparaître cette apparente contradiction. Ainsi se trouve confirmée la prééminence de la voie extrinsèque de la coagulation in vivo, et par conséquent, la libération locale de facteur tissulaire est très vraisemblablement le primum movens de la coagulation in vivo.

. leucocytes et facteur tissulaire

Comme cela a été dit précédemment, la présence de dépôts de fibrine est un des éléments histologiques de la lésion inflammatoire, laissant supposer qu'il existe localement, au site de la réaction inflammatoire, une activation du processus de coagulation dont les protéines affluent du fait de l'exsudation plasmatique. La polyvalence d'activité du facteur XII et ses interactions avec d'autres systèmes que celui de la coagulation (complément, kinines, fibrinolyse) pourraient lui conférer, à condition qu'il soit activé, un rôle important dans la réaction inflammatoire; cependant ce facteur XII n'est pas nécessaire à une hémostase normale et sa présence n'est pas non plus indispensable dans la réaction inflammatoire.

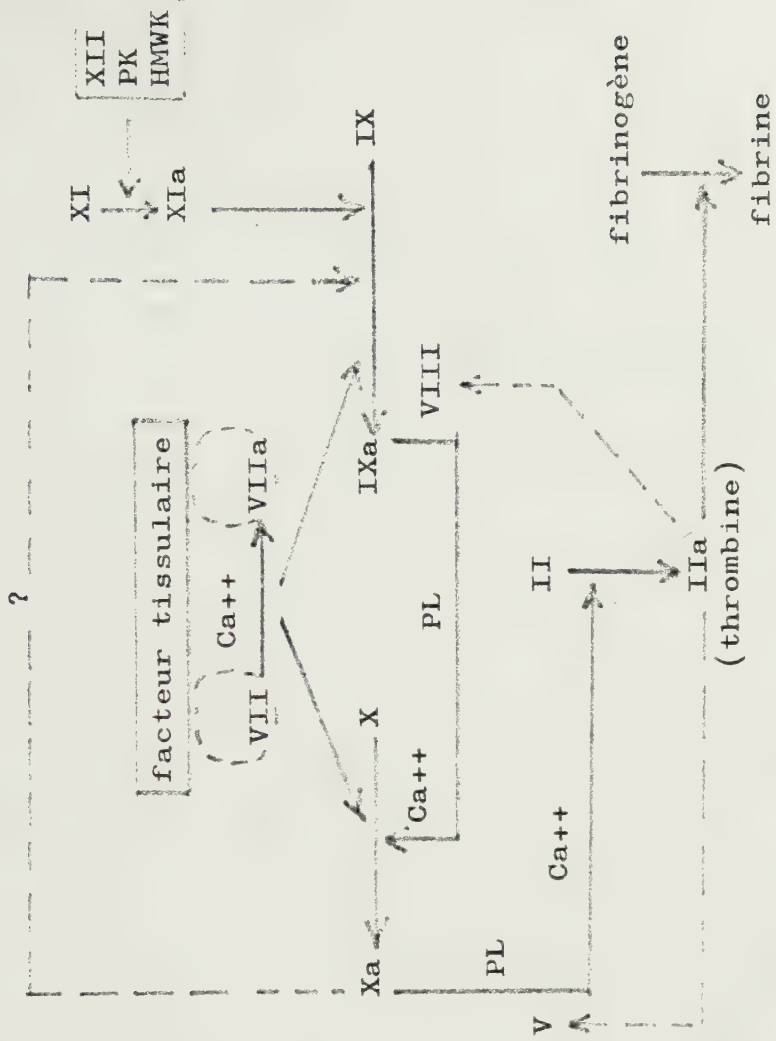
Par contre, il a été montré que le facteur tissulaire peut être libéré non seulement par les cellules endothéliales des vaisseaux mais également par diverses cellules et tout particulièrement les leucocytes, en présence d'endotoxine par exemple; l'activité FT la plus élevée est obtenue dans les suspensions de monocytes et macrophages et elle peut être mise en évidence sur la membrane des cellules alvéolaires du poumon. Par conséquent l'exsudation du plasma et des protéines qu'il contient (en particulier les protéines de la coagulation) et la diapédèse des cellules phagocytaires réunissent localement tous les éléments nécessaires à la transformation du fibrinogène en fibrine. En outre, l'action chimiotactique de l'un des peptides détachés du fibrinogène par la thrombine (fibrinopeptide B) ne peut qu'amplifier les effets du stimulus initial (cf 2ème partie).

Ainsi, la capacité de libération de facteur tissulaire par les leucocytes participant à la réaction inflammatoire éclaire d'un jour nouveau la relation entre le système de la coagulation et l'infection (cf FIGURE II).

NB : Légende de la FIGURE I présentée page suivante :

(REPRESENTATION SCHEMATIQUE DE LA COAGULATION IN VITRO)

- Les chiffres romains désignent les protéines de la coagulation selon la nomenclature internationale; l'indice "a" signifie que ces protéines sont activées.
- PK = prékallikréine
- HMWK = kininogène de haut poids moléculaire
- PL = phospholipides
- Le caractère coopératif de la formation de la thrombine est illustré par la rétroaction de cet enzyme sur les facteurs V et VIII.
- Les inhibiteurs naturels de la coagulation (antithrombines plasmatiques) qui ont un rôle fondamental dans la modulation de la cinétique de la coagulation ne sont pas représentés sur ce schéma.



Modèle actualisé

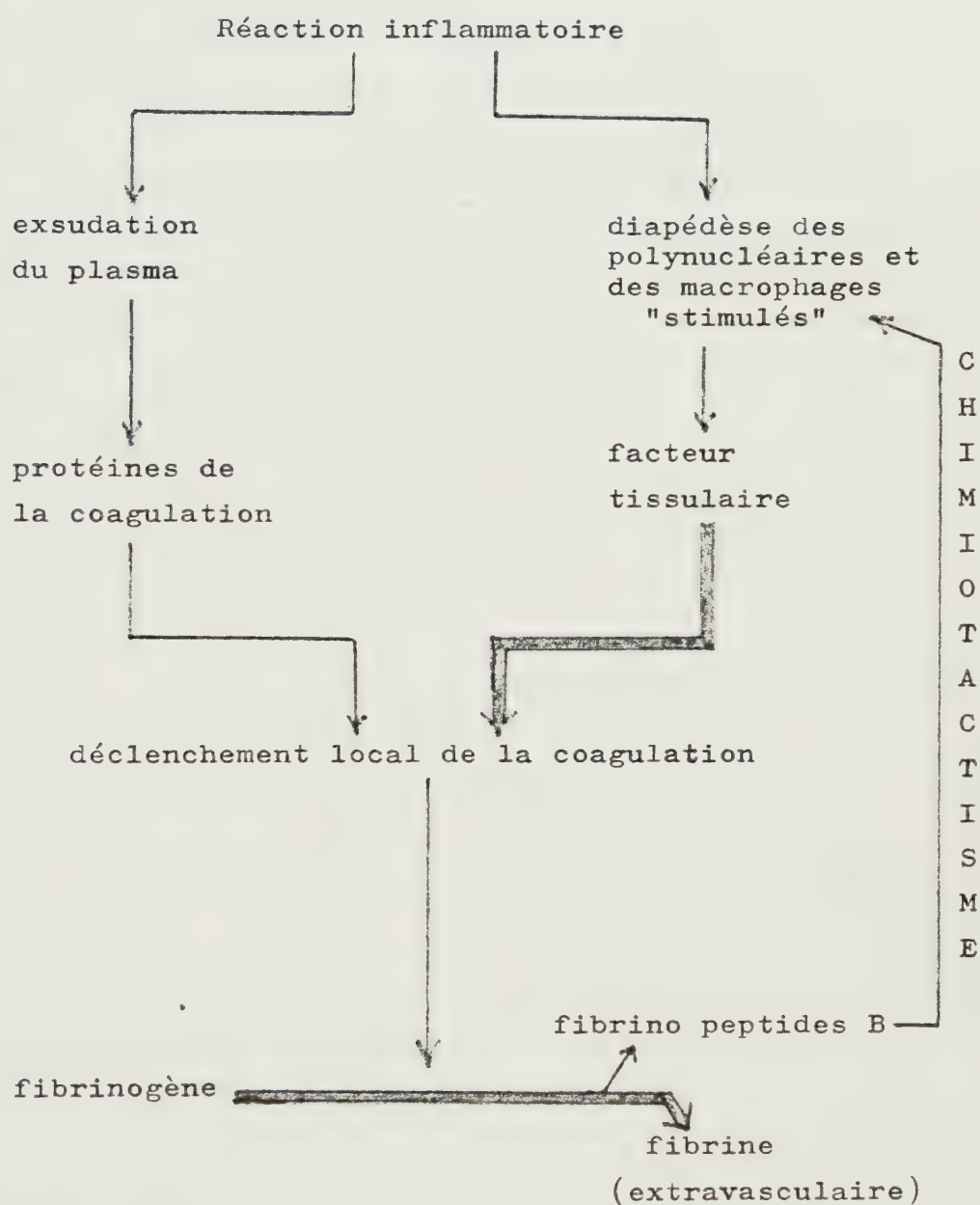
Modèle classique

REPRESENTATION SCHEMATIQUE DE LA COAGULATION IN VITRO

(d'après GOUAULT-HELMANN et JOSSO - 30)

FIGURE I

(cf légende page précédente)



PHYSIOPATHOLOGIE DE LA FORMATION DES DEPOTS DE FIBRINE
AU COURS DE LA REACTION INFLAMMATOIRE
 (d'après GOUAULT-HELMANN et JOSSO - 30)

FIGURE II

+ + b.2.3 -le système du complément (2d - 18 - 46)

La découverte du système complémentaire est due à BORDET qui, au siècle dernier, montra qu'à côté des anticorps spécifiques de l'antigène existait dans le sérum un système thermolabile non spécifique jouant un rôle primordial dans la défense de l'organisme et agissant en "complément" des anticorps. Les travaux ultérieurs ont permis de mieux connaître la nature et la mise en jeu de ce système multifactoriel qui peut être activé par des mécanismes immunologiques (réaction antigène-anticorps) mais aussi non immunologiques (contact avec une endotoxine par exemple) selon deux voies distinctes initialement, voie classique et voie alterne, qui se rejoignent ensuite en un tronc commun (au stade d'activation de C3). Cette réaction complémentaire peut aboutir d'une part à une cytolyse lorsqu'elle survient au niveau d'une membrane cellulaire (la réaction d'immunohémolyse servant de modèle de réaction d'activation du complément selon la voie classique), d'autre part à diverses activités biologiques jouant un rôle prépondérant dans la réponse de type inflammatoire (que ce soit pour la défense de l'organisme ou dans la pathogénie de diverses maladies). Ainsi, au niveau de la barrière bronchique et alvéolaire, le complément se trouve impliqué directement ou indirectement dans la défense du poumon contre l'infection, dans les processus inflammatoires et dans les lésions immunologiques de l'appareil respiratoire. A noter qu'en dehors du sérum, plusieurs de ses composants ont pu être détectés en faible quantité dans les sécrétions bronchiques et dans le liquide de lavage alvéolaire. Il convient donc de préciser ici le métabolisme du complément et ses relations avec les autres mécanismes de défense du poumon, non seulement avec les anticorps mais aussi avec d'autres facteurs humoraux comme la C Reactive Proteine et avec les facteurs cellulaires de défense, en particulier les cellules phagocytaires (polynucléaires et macrophages). Il est intéressant de noter d'ores et déjà que les cellules phagocytaires, soumises à l'action du complément, interviennent elles mêmes sur la mise en jeu de ce système :

les polynucléaires semblent capables de moduler l'action de certains de ses composants (cf 2ème partie : régulation de la chimiotaxie) et les macrophages sont responsables en partie de la synthèse des composants du complément. En effet, ces composants du complément sont synthétisés par trois types de cellules :

- . les macrophages du système des phagocytes mononucléés (ancien système réticuloendothélial) que l'on trouve dans le foie, la rate, les ganglions, les poumons.
- . certaines cellules épithéliales de l'intestin et du foie
- . les fibroblastes.

La majorité des composants du complément est synthétisée au niveau du foie par ses macrophages (cellules de Küppfer) et ses hépatocytes et le taux de renouvellement de ces protéines est élevé.

Il est important de considérer que le système complémentaire est mis en jeu en permanence et qu'il existe un équilibre entre activation et désactivation.

+ + + b.2.3.1 - la réaction complémentaire (cf FIGURE III)

1) la voie classique d'activation du complément

- l'activation de la voie classique puis du tronc commun fait intervenir successivement 9 composants, désignés par la lettre C suivie d'un chiffre, dans un ordre particulier : C1-C4-C2-C3-C5-C6-C7-C8-C9 (chaque chiffre marquant la chronologie de leur découverte); en outre, la première fraction C1 possède trois sous-unités : C1q-C1r-C1s. Ces composants du complément sont des glycoprotéines comme la plupart des globulines sériques; la sous-unité C1q est apparentée aux glycoprotéines structurales du tissu conjonctif et en particulier au collagène. L'activation du complément se fait en cascade, chaque composant activé devenant capable d'activer à son tour le suivant. Cette activation relève en général du clivage enzymatique d'un composant inactif, démasquant sur celui-ci un site actif c'est-à-dire capable de cliver le composant suivant et ainsi de suite. Tout au long de la séquence, les clivages enzymatiques détachent de petits fragments de composants qui ne participent pas à la suite de la séquence mais qui sont doués de propriétés biologiques importantes (C3a, C5a ...).

de la C3 convertase, le composant C3 se scinde en 2 fragments : le plus gros C3b est doté de 3 sites actifs assurant respectivement l'opsonisation, l'immunoadhérence et la poursuite de la réaction d'activation du complément; il est donc fixé sur la cellule et engagé dans la séquence cytolytique tandis que le plus petit fragment C3a est libéré dans la phase fluide où il exerce des propriétés anaphylatoxiques qui le classent dans la réponse de type inflammatoire.

. formation de la C5 convertase : la liaison d'un site de C3b avec la C3 convertase $\overline{C4b2a}$ forme un complexe efficace pour la séquence cytolytique appelé peptidase C3 dépendante ou C5 convertase car agissant au niveau du composant C5 ou beta1F globuline. La C5 convertase $\overline{C4b2a3b}$ ainsi formée clive le C5 en deux fragments C5a et C5b dont le plus petit, C5a, passe dans la phase fluide où il exerce des propriétés anaphylatoxiques et chimiotactiques.

+ attaque de la membrane (faisant intervenir C5-6-7-8-9) : elle commence lors de la fixation du gros fragment C5b sur la membrane antigénique, fixation qui n'est maximale qu'en présence de C6 et C7. En présence d'un excès de composants du complément de cobaye, c'est en fait un complexe trimoléculaire $\overline{C5b67}$ qui se lie à la membrane, lequel complexe développe une activité chimiotactique. Puis entrent en jeu les constituants ultérieurs de la séquence cytolytique : C8 et C9 qui sont activés puis fixés. Lorsque le complément étudié est d'origine humaine et qu'il y a un excès de composants, le C5b provoque la formation d'un complexe activé $\overline{C5b6789}$ qui se fixe en bloc sur la membrane. Si l'antigène est un erythrocyte, l'effet de la séquence terminale C56789 est d'amener localement la membrane à l'état d'un simple filtre semiperméable par arrêt de la circulation sélective des ions Na^+ et K^+ ; il y a alors afflux d'eau dans le compartiment de pression osmotique la plus forte c'est-à-dire à l'intérieur de l'erythrocyte et celui-ci finit par éclater. L'hémolyse débute dès la fixation de C8 et C9 mais, en microscopie électronique, il a été vu des images de lésion de la membrane dès la fixation de C5b, avant tout début d'hémolyse.

Ainsi, le caractère amplificateur de l'activation du complément permet de comprendre l'effet biologique important observé avec une quantité minime d'immuns complexes par exemple. Cependant, les composants activés ne peuvent agir indéfiniment car d'une part ils perdent rapidement leur réactivité biochimique et d'autre part leur intervention est étroitement contrôlée par des inactivateurs naturellement présents dans l'organisme.

- l'étude de la voie classique aboutissant à la cytolyse à partir d'une réaction entre le complément et un complexe antigène-anticorps au niveau d'une membrane cellulaire (avec pour type la réaction d'immunohémolyse) peut être divisée en 3 étapes :

- + reconnaissance du site de fixation du complément sur l'immunoglobuline (en rapport avec C1q) : certains anticorps sont susceptibles, après combinaison avec leur antigène spécifique par leur fragment Fab, de fixer le premier composant C1 du complément et ceci par l'intermédiaire de la sous-unité C1q au niveau du fragment Fc de l'immunoglobuline. Seules les Ig G1, Ig G2, Ig G3 et les Ig M sont capables de se combiner avec le C1q après formation d'un complexe antigène-anticorps. Dans le sérum, la sous-unité C1q est toujours associée aux deux autres sous-unités de C1 (C1r et C1s) et cet ensemble trimoléculaire forme un complexe macromoléculaire C1qrs en présence de calcium. Un inactivateur du C1 (le C1-INA) forme avec C1r et C1s un complexe C1-INA - C1r - C1s et neutralise ainsi l'action de C1s.

- + activation enzymatique (faisant intervenir C1-4-2-3)

- . formation de la C1 esterase : le changement de conformation de C1q après combinaison avec l'immunoglobuline active la protéase C1r qui transforme à son tour la proesterase C1s en esterase $\overline{\text{C1s}}$ (la barre signifiant l'activation du fragment donné).

- . formation de la C3 convertase : l'esterase $\overline{\text{C1s}}$ formée agit sur ses 2 substrats naturels C4 et C2 pour former un complexe doué d'activité enzymatique dont le substrat naturel est le C3 ou beta1C globuline d'où son appellation de C3 convertase. $\overline{\text{C1s}}$ clive d'abord C4 en C4a et C4b puis C2 en C2a et C2b; en présence de Mg++, C2a se complexe alors avec C4b pour former la C3 convertase $\overline{\text{C4b2a}}$ qui est labile. Sous l'action

- à côté de sa réaction habituelle avec les Ig G et Ig M combinées à leurs antigènes, le C1q est capable de réagir avec d'autres éléments pour activer la voie classique du complément et notamment la C Reactive Proteine ou CRP. La C Reactive Proteine (41) est une protéine sérique synthétisée par les hépatocytes sous l'influence de médiateurs humoraux libérés par les foyers inflammatoires ou les tissus nécrosés et possédant, outre un rôle probable d'opsonisation, la capacité de fixer le complément. En effet, la CRP possède la propriété de former des complexes précipitants avec le polysaccharide C (CPS) présent dans la paroi du pneumocoque et, de manière un peu analogue à la réaction antigène-anticorps, les complexes formés par la CRP et le CPS possèdent la propriété d'activer le complément. Ainsi, l'analyse des complexes CRP - CPS précipités révèle la présence à leur niveau de C1q et de C3 ce qui, avec la démonstration directe de la capacité de fixation de C1q sur la CRP complexée, suggère une activation du complément par la voie classique; effectivement, lors de l'incubation d'hématies recouvertes de CPS en présence de CRP et de complément, la fixation initiale de C1q sur les complexes formés à la surface des hématies aboutit à une hémolyse.

2) la voie alterne d'activation du complément

La voie alterne procède comme la voie classique d'une cascade d'activations dont le produit final est une C3 convertase capable de cliver également le C3 en ses deux fragments C3a et C3b mais de structure différente de la C3 convertase de la voie classique. Schématiquement, la formation de cette C3 convertase de la voie alterne, qui est constituée d'un complexe bimoléculaire $\overline{\text{C3bBb}}$ provenant du clivage du C3 et d'un facteur B, fait intervenir :

- une substance activatrice S de nature tantôt non immunologique (inuline, zymosan, CVF extrait du venin de cobra, parois bactériennes, endotoxines de bactéries Gram négatif), tantôt de nature immunologique (en particulier complexes avec des Ig A).
- des ions Mg^{++}
- un proactivateur B ou C3PA qui est une beta1 globuline dont l'activation passe par son clivage en deux fragments par une protéine D activée ou C3PAase.

- le fragment C3b lui-même (circuit rétroactif du C3b) dont l'origine première est discutée : ces premières molécules de C3b nécessaires à la constitution de la C3 convertase $\overline{C3bBb}$ pourraient en effet provenir d'une activation même minime de la voie classique, ou du catabolisme naturel du C3 dans l'organisme ou encore du clivage enzymatique du C3 par une convertase initiale dont la formation ferait intervenir, outre les éléments précédemment décrits, un facteur d'initiation protéique IF (dont l'existence est mise en doute). Quoi qu'il en soit, dès que sous l'influence de la C3 convertase $\overline{C3bBb}$ apparaissent, par clivage du C3, de nouvelles molécules de C3b, celles-ci vont pouvoir soit se fixer à d'autres fragments b du facteur B et contribuer à la formation d'une quantité croissante de C3 convertase $\overline{C3bBb}$, soit participer, sous certaines conditions, à la formation de C5 convertase par adjonction d'une molécule de C3b au complexe $\overline{C3bBb}$ formant ainsi un complexe trimoléculaire $\overline{C3b_nBb}$ permettant le clivage du C5 en C5a et C5b.

La formation de la C3 convertase de la voie alterne est soumise à un contrôle très précis par des protéines régulatrices exerçant une action freinatrice ou au contraire favorisante :

- . la beta1H globuline est capable de dissocier les facteurs Bb et C3b à l'intérieur de la C3 convertase.

- . le C3b-INA est capable d'inactiver le C3b en le clivant (la beta1H globuline accélère donc l'action du C3b-INA en isolant le C3b de la C3 convertase).

- . la properdine au contraire est capable de réagir avec le C3b afin de retarder son inactivation et aurait donc un rôle stabilisateur sur la C3 convertase.

il est à noter que toutes ces régulations, en particulier celles qui concernent le C3b-INA et la beta1H globuline sont opérantes en phase liquide et à la surface de particules non activatrices. En revanche, elles sont beaucoup moins efficaces, voire pas du tout, quand la convertase se forme à la surface d'une particule activatrice (bactérie en particulier); sur cette particule, le C3b fixé est inaccessible à la beta1H et ainsi à l'inactivation par le C3b-INA et ces molécules de C3b échappant à la régulation sont capables d'engager la poursuite de la séquence d'activation. L'immunoadhérence du C3b a donc un rôle facilitant sur l'activité complémentaire.

+ + + b.2.3.2 - Rôles du complément dans l'inflammation
et la phagocytose (51)

L'activation du complément à point de départ immunologique ou non immunologique détermine toute une série d'activités biologiques qui relèvent tantôt de l'intervention directe d'un composant non modifié (précipitation de complexes immuns par le C1q par exemple, servant habituellement de méthode de détection de ces immuns complexes), tantôt de l'intervention d'un fragment de clivage d'un composant (activité anaphylatoxique de C3a ou C5a par exemple), tantôt encore de l'intervention d'un complexe multimoléculaire fait de l'union de plusieurs composants entre eux (action cytolytique de C56789 par exemple). Parmi ces diverses activités du complément nous développerons surtout les activités anaphylatoxiques et les effets sur les cellules phagocytaires.

- rôle du complément dans la réaction inflammatoire (21)

Il repose sur les fractions C3a et C5a du complément. Ces anaphylatoxines sont produites en présence de complexes immuns ou de substances colloïdales (endotoxines bactériennes par exemple) mais elles n'interviennent pas dans l'anaphylaxie à Ig E ou hypersensibilité immédiate. Elles proviennent du clivage de leur molécule d'origine C3 ou C5, cette rupture pouvant être provoquée par la trypsine, la plasmine et par les C3 ou C5 convertases des voies classique et alterne. Elles induisent une augmentation de la perméabilité capillaire et une contraction des fibres musculaires lisses par une action directe ou indirecte; dans ce dernier cas, elles réagissent avec les polynucléaires basophiles et les mastocytes dont elles déclenchent la dégranulation avec libération d'histamine, de sérotonine et d'héparine. A noter que le C5a est mille fois plus actif que le C3a in vivo sur la peau humaine. Par ailleurs, il existe de nombreux rapports in vitro entre le système complémentaire et d'autres systèmes biologiques participant à la réaction inflammatoire comme la coagulation, la fibrinolyse, le système des kallikréines et des kinines (cf 2ème partie : facteurs chimiotactiques mis en jeu par la réaction inflammatoire).

- effets du complément sur les cellules phagocytaires

De nombreuses cellules possèdent des récepteurs de membrane pour le complément et un aspect essentiel des interactions fonctionnelles entre le complément et les cellules est l'initiation des activités des cellules phagocytaires par les produits dérivant de l'activation séquentielle du complément :

- . chimiotaxie : C5a surtout et complexe $\overline{C567}$ (cf 2ème partie)
- . opsonisation et immunoadhérence : C3b. Le C3b favorise la reconnaissance de l'agresseur par les phagocytes (opsonisation) et maintient un contact intime entre les deux (immunoadhérence) facilitant ainsi l'ingestion puis la digestion de l'intrus.

- . libération d'enzymes hydrolytiques : C5a. A côté de sa fonction anaphylatoxinique et chimiotactique, le C5a est capable, à l'échelon subcellulaire, d'induire même en dehors de toute phagocytose, la fusion des granules lysosomaux des polynucléaires entre eux puis avec la membrane cellulaire, et la libération de leur contenu enzymatique à l'extérieur de la cellule. Le C5a agirait ici indirectement par contact avec des récepteurs spécifiques de la membrane cellulaire; il déclencherait ainsi une élévation du taux cellulaire de GMP cyclique qui engendrerait à son tour un assemblage des microtubules qui règlent les mouvements intracellulaires de certaines organelles et en particulier les grains de lysosomes (phénomène voisin du rôle des nucléotides cycliques dans la migration leucocytaire. cf 2ème partie).

Ainsi, plus que la destruction directe d'une bactérie (ou autre cellule cible) par son action cytolytique, la principale conséquence biologique de l'activation du complément est certainement l'élaboration de dérivés agissant comme médiateurs de la réaction inflammatoire.

+ + + b.2.3.3 - Complément et infection bactérienne (31-34-43-44)

Au vu des données précédentes, il apparaît que le système complémentaire intervient à de nombreuses étapes de la défense antibactérienne et, de ce fait, une hypercomplémentémie est couramment observée au cours des infections. Inversement, une déficience du système complémentaire s'accompagne, notamment au niveau pulmonaire, d'une réduction de la clearance bactérienne expliquant la fréquence des états infectieux au cours des

hypocomplémentémies. Néanmoins, les déficits homozygotes en complément ne se compliquent pas toujours de susceptibilité particulière aux infections. Ceci est lié d'une part au fait que le complément est loin d'intervenir seul dans la défense antiinfectieuse; ainsi, à côté des opsonines qui dépendent du complément (C3b), il en est d'autres telles que les Ig G qui peuvent jouer un rôle important à elles seules. D'autre part, un déficit homozygote n'interrompt qu'une partie du fonctionnement du système complémentaire : en cas de déficit en C2 par exemple, la voie alterne et le tronc commun fonctionnent normalement et des activités biologiques aussi importantes que celles de C3b, C3a, C5a... peuvent encore apparaître; en cas de déficit en C6, les fonctions de la voie classique et de la voie alterne sont normales et seules celles de la fin du tronc commun (cytolysse) sont absentes. En somme, l'exploration du système complémentaire est un reflet important mais partiel de la machinerie de défense antibactérienne.

+ + b.2.4 - la phagocytose (12a - 13)

La phagocytose est caractérisée par l'ingestion et éventuellement la destruction de particules de plus de 10 nanomètres de diamètre, inertes ou vivantes. Nous considérons ici la phagocytose des bactéries par les polynucléaires neutrophiles (33).

+ + + b.2.4.1 - conditions de la phagocytose

- la rencontre d'un polynucléaire neutrophile et d'un germe s'effectue dans les tissus et l'abondance des polynucléaires au sein d'un foyer infectieux prouve que cette rencontre n'est pas fortuite; les polynucléaires sont en effet attirés sur les lieux de l'invasion microbienne et cette propriété complexe qui implique une sensibilité à distance du polynucléaire, sa mobilité et sa plasticité pour s'échapper à travers la paroi d'un capillaire par diapédèse et gagner les tissus est appelée chimiotaxie (cf 2ème partie).

- une fois en présence du germe, le polynucléaire est capable d'exercer son action phagocytaire qui se décompose en plusieurs temps : d'abord reconnaissance de la particule à phagocyter grâce au phénomène d'opsonisation qui aboutit à l'accolement du germe sur le phagocyte, puis englobement par invagination de la membrane réalisant des "pseudopodes" qui intériorisent le germe dans une vacuole de phagocytose ou phagosome, enfin digestion par fusion de la vacuole avec des granules riches en enzymes, formant le phagolysosome.

- en relation étroite avec cette activité phagocytaire, le polynucléaire développe une activité bactéricide c'est-à-dire qu'il est capable de tuer le germe ingéré avant d'en assurer la dégradation, ceci grâce à la production de molécules d'oxygène toxiques : superoxyde, oxygène singlet, eau oxygénée. (ce germe a en principe déjà été lésé avant son ingestion par des enzymes protéolytiques extracellulaires ou éventuellement par l'action cytolytique du complément).

- toutes ces opérations intimement liées nécessitent de l'énergie et font intervenir des propriétés ou organites qui font l'originalité du polynucléaire neutrophile mature, à savoir :

. une membrane cytoplasmique particulièrement souple et déformable qui présente entre autre des sites récepteurs pour le fragment Fc des Ig G1 et Ig G3 et pour la fraction C3b du complément qui jouent le rôle d'opsonines, et également des sites récepteurs pour la fraction C5a qui est chimiotactique.

. un noyau dense polylobé contribuant à la plasticité de la cellule.

. un système de microfilaments et de microtubules responsable des propriétés contractiles de la cellule.

. plusieurs types de granulations au contenu enzymatique différent, groupées en :

* granulations primaires ou azurophiles apparaissant les premières dans la lignée granulocytaire et contenant surtout des hydrolases acides (comme la beta glucuronidase), des protéases neutres (en particulier des serine protéinases comme l'élastase et la cathepsine G), des protéines cationiques, la myeloperoxydase et un peu de lysozyme.

* granulations secondaires ou spécifiques, plus petites et plus nombreuses que les premières et contenant la majeure partie du lysozyme, de la lactoferrine qui renforce l'action du lysozyme, enfin la collagenase.

. un cytosol riche en glycogène : la source d'énergie du polynucléaire neutrophile est représentée par le glucose dont la dégradation s'effectue par la voie d'Embden - Meyerhof et par le shunt des hexoses monophosphates. L'augmentation de l'activité du shunt des hexoses monophosphates lors de la phagocytose aboutit, en présence d'O₂ et d'une NADPH oxydase, à la production d'importantes quantités d'eau oxygénée qui est douée de propriétés bactéricides; cet effet bactéricide de H₂O₂ est augmenté par la myeloperoxydase contenue dans les granulations primaires des polynucléaires et par certains halogènes tels que l'iode.

+ + + b.2.4.2 - déroulement de la phagocytose

Reposant initialement sur la capacité de migration de la cellule phagocytaire vers la bactérie à phagocyter (cf 2ème partie), la phagocytose comporte alors 3 étapes :

1) l'opsonisation (68), c'est-à-dire la fixation des bactéries sur les cellules phagocytaires par le biais de protéines sériques immunes ou non (dites opsonines) qui facilitent ainsi beaucoup l'ingestion. L'opsonisation des bactéries peut s'opérer par au moins 3 mécanismes distincts :

- dans le premier cas, l'opsonine est un anticorps spécifique agissant seul entre la bactérie et le phagocyte. Cet anticorps spécifique est habituellement dirigé contre un antigène de surface du microorganisme représenté par des peptidoglycanes membranaires; néanmoins, certaines bactéries sont susceptibles de développer un pouvoir antiphagocytaire en masquant ces peptidoglycanes par le biais d'une capsule polysaccharidique comme pour certains staphylocoques ou d'une couche protéique comme la protéine M de certains streptocoques (67). Ce premier mécanisme d'opsonisation par anticorps spécifique seul interviendrait in vivo surtout chez les sujets hyperimmunisés. Il est l'apanage des Ig G1 et Ig G3; l'immunoglobuline se fixe à l'immunodéterminant de surface par sa partie Fab et au récepteur de surface du polynucléaire par sa partie Fc (au niveau d'un site voisin du site de fixation du complément).

- dans le second cas, certainement plus souvent en cause, l'opsonine est le composant C3b du complément provenant de l'activation de la voie classique par formation d'un complexe antigène-anticorps faisant intervenir les Ig G1 - 2 - ou 3 ou les Ig M. Le C3b ainsi formé sert de pont entre la bactérie et le phagocyte qui a aussi des sites récepteurs de surface pour le C3b.

- dans le troisième cas, l'opsonine est le composant C3b du complément provenant de l'activation de la voie alterne qui est capable de fonctionner en l'absence d'anticorps et qui représente vraisemblablement un mécanisme important d'opsonisation chez des sujets non immunisés. Il est probable que la voie alterne joue le rôle principal au début de l'infection alors que plus tard, avec la formation d'anticorps spécifiques ou lors d'infections ultérieures, la voie classique prendrait une importance plus grande.

- enfin, un rôle opsonisant serait dévolu également à la C Reactive Proteine (CRP) et à certaines endotoxines bactériennes.

2) l'ingestion succède à l'opsonisation; elle repose sur le phénomène d'immunoadhérence et comporte une invagination cellulaire qui assure l'englobement de la bactérie :

. l'adhésivité est une propriété fondamentale du polynucléaire dont l'activité ne peut s'exercer qu'au contact d'une autre surface; cette capacité d'adhérence est mise en jeu lors de la margination des polynucléaires dans les capillaires sanguins, lors de leur migration dans les tissus et lors de la phagocytose des microorganismes. Elle fait intervenir des phénomènes physiques (température à 37°), membranaires (structures lipidiques de membrane) et métaboliques (cations divalents). L'immunoadhérence du polynucléaire avec la bactérie dépend intimement du fragment C3b du complément qui dispose ainsi de 3 sites actifs permettant respectivement l'opsonisation, l'immunoadhérence et la poursuite de la réaction d'activation du complément.

. l'invagination ectoplasmique de part et d'autre de la particule en contact avec le phagocyte aboutit à la formation de "pseudopodes" qui entourent progressivement celle-ci. Les études en microscopie électronique ont révélé la participation de structures fibrillaires identiques à celles mises en jeu lors de la migration leucocytaire (cf 2ème partie).

. la fusion des "pseudopodes" correspondant à la fusion des feuilletts membranaires assure l'englobement de la particule dans une vacuole appelée phagosome.

3) la digestion, succédant à l'ingestion, comporte la formation du phagolysosome et la dégranulation lysosomale : les lysosomes sont des granules cytoplasmiques limités par une membrane lipoprotéique et contenant des enzymes participant à la destruction de la particule phagocytée; peu après la formation du phagosome, ils migrent vers la particule étrangère, se collent à la membrane de la vacuole, fusionnent avec elle et y déchargent leur contenu (d'abord les granulations secondaires ou spécifiques puis les granulations primaires ou azurophiles). Le "release" maximal apparaît 30 à 60 minutes après le début de la phagocytose et la libération enzymatique accompagnant la formation du phagolysosome peut également se faire à l'extérieur de la cellule, expliquant la présence d'enzymes protéolytiques dans les espaces extracellulaires. Ce mécanisme de digestion semble faire intervenir aussi les structures contractiles de la cellule et il est important de noter que la digestion, comme les autres phases de la phagocytose, est inhibée par les substances qui élèvent le taux intracellulaire d'adénosine monophosphate cyclique (AMPC) alors que les substances qui augmentent le taux intracellulaire de guanosine monophosphate cyclique (GMPc) activent les différentes étapes de la phagocytose. Ce rôle essentiel des nucléotides cycliques sera développé à propos de la physiologie cellulaire et de la régulation de la chimiotaxie (cf 2ème partie).

+ + + b.2.4.3 - exploration de la phagocytose et de la bactéricidie

A côté des anomalies quantitatives des polynucléaires neutrophiles qui exposent indéniablement aux infections (neutropénies et surtout agranulocytoses), diverses anomalies qualitatives des cellules phagocytaires ont été mises en évidence depuis la description en 1957 de la granulomatoses septique chronique, première maladie liée à un déficit fonctionnel des granulocytes à avoir été reconnue (trouble de la bactéricidie par déficit probable en NADPH oxydase). Ces anomalies granulocytaires congénitales ou acquises peuvent correspondre à un défaut enzymatique précis ou à une anomalie fonctionnelle complexe touchant de façon variable la migration, la phagocytose proprement dite ou la bactéricidie (5 - 63). Outre la migration leucocytaire qui sera étudiée ultérieurement (cf 2ème partie), l'activité phagocytaire et bactéricide des polynucléaires peut être appréciée par un certain nombre de tests :

- . détermination du pourcentage de germes phagocytés en un temps donné (pouvoir phagocytaire).
- . détermination du pourcentage de germes survivant dans les phagocytes après un temps donné (pouvoir bactéricide).
- . test au nitrobleu de tetrazolium (NBT) explorant l'activité du shunt des hexoses monophosphates après phagocytose de particules de latex.
- . dosages précis de molécules enzymatiques (myeloperoxydase, NADPH oxydase) ou de molécules d'oxygène toxiques (surtout eau oxygénée).

Une exploration fonctionnelle des polynucléaires neutrophiles peut être demandée essentiellement devant une infection traînante et récidivante lorsque aucune cause anatomique, aucun déficit immunitaire, aucune maladresse thérapeutique n'ont pu expliquer la prolongation de l'infection ou ses récurrences; ou bien encore lorsqu'une infection paraît anormalement grave en regard du germe en cause. L'étude fonctionnelle des phagocytes circulants doit être répétée à distance de l'épisode infectieux et toujours couplée à celle de témoins.

P S - Rôle des polynucléaires eosinophiles dans la défense
antibactérienne (11)

Les polynucléaires eosinophiles ont dans l'ensemble les mêmes propriétés que les polynucléaires neutrophiles (migration tissulaire, phagocytose et même bactéricidie) et leur nombre est susceptible de varier lors d'infections bactériennes; néanmoins, ces propriétés antibactériennes (notamment contre les staphylocoques et colibacilles) sont beaucoup moins développées que celles des neutrophiles et ont une importance secondaire vis-à-vis du rôle prépondérant joué par les polynucléaires eosinophiles lors des maladies par hypersensibilité et de certaines parasitoses.

Annexe : structure et métabolisme des prostaglandines (58a)

Les prostaglandines (PGs) constituent une nouvelle famille originale de substances biologiquement actives caractérisées par leur synthèse ubiquitaire et leurs activités variées sur pratiquement toutes les cellules de l'organisme. Leur étude est délicate car leurs actions pharmacologiques sont aussi complexes que variées et volontiers opposées selon le composant et la méthodologie utilisés. Ainsi, rien qu'au cours de la réaction inflammatoire qui nous intéresse ici, les prostaglandines se trouvent impliquées à la fois dans le contrôle de l'hémostase, du tonus vasculaire et de l'activité des cellules phagocytaires.

+ Structure et physiologie générale des prostaglandines

Les prostaglandines sont des substances naturelles à 20 atomes de carbone chimiquement apparentées aux acides gras insaturés (en particulier l'acide arachidonique) dont elles dérivent. Les prostaglandines primaires, les plus anciennement connues, sont divisées en six classes désignées par une lettre de A à F (surtout PG E, PG F) avec plusieurs sous classes. Récemment sont venus s'y adjoindre différents composés instables particulièrement actifs : les endoperoxydes PG G et PG H, le thromboxane TX A₂ et la prostacycline PG I₂. Les endoperoxydes sont les précurseurs à la fois des prostaglandines primaires d'une part, du thromboxane et de la prostacycline d'autre part et constituent donc une véritable plaque tournante de la synthèse des prostaglandines. De plus, il apparaît actuellement que la régulation de certains processus biologiques dans lesquels sont impliquées les prostaglandines dépend largement de la balance entre la synthèse de TX A₂ et de PG I₂ qui possèdent sur de nombreux tissus une action diamétralement opposée, les prostaglandines primaires ayant, à quelques exceptions près, des fonctions physiologiques accessoires malgré leurs propriétés pharmacologiques.

+ Production des prostaglandines (cf FIGURE IV)

- . Les prostaglandines sont synthétisées dans pratiquement tous les tissus, les plaquettes et le poumon étant particulièrement actifs à cet égard. Leur dosage est cependant difficile car elles sont produites à des taux extrêmement faibles (la concentration plasmatique des PG E ou PG F est de l'ordre de 0,01 nanogramme par ml). Actuellement trois méthodes de dosage sont utilisées : dosage radioimmunologique, spectrométrie de masse couplée à la chromatographie en phase gazeuse (qui est la méthode de référence), et méthode de superfusion d'organes isolés disposés en cascade, particulièrement utile pour le dosage des dérivés instables.
 - . La biosynthèse des prostaglandines est un phénomène complexe se déroulant à l'intérieur des membranes cellulaires et comportant successivement :
 - la libération d'acides gras insaturés en C20 présents dans les phospholipides membranaires grâce à l'action d'une phospholipase A2 spécifique.
 - la formation des endoperoxydes PG G et PG H grâce à une prostaglandine endoperoxyde synthétase microsomiale encore appelée cyclooxygénase.
 - la transformation rapide des endoperoxydes en 3 familles de composés possédant des activités biologiques très différentes :
 - . formation de prostaglandines primaires sous l'influence d'isomérases et de réductases
 - . formation de thromboxane par une thromboxane synthétase
 - . formation de prostacycline par une prostacycline synthétase
- Bien que l'étape ouvrant la biosynthèse des PGs grâce à l'endoperoxyde synthétase (cyclooxygénase) ait une grande importance, il semble que le niveau de biosynthèse des PGs soit surtout conditionné par la disponibilité en acides gras insaturés qui sont les substrats de cet enzyme. Ces acides gras (en particulier l'acide arachidonique) sont libérés des phospholipides membranaires grâce à l'action d'une phospholipase A2 spécifique probablement dépendante du calcium et activée par toute stimulation mécanique de la cellule et par un grand nombre de stimuli chimiques encore largement non identifiés (collagène, thrombine, ATP, angiotensine II, bradykinine..).

Les effets de ces stimuli sont spécifiques et additifs, suggérant l'existence de différents récepteurs. Les cortico-stéroïdes inhibent in vivo la biosynthèse des PGs probablement par inhibition de cette phospholipase A2; par ailleurs divers médicaments interfèrent avec les réactions enzymatiques de la synthèse des prostaglandines (cyclooxygénase, prostacycline synthétase) ou de l'intervention cellulaire de ces substances (phosphodiesterase transformant l'AMP cyclique en AMP) mais l'action antiagrégante plaquettaire attribuée à certains d'entre eux est extrêmement controversée in vivo.

A noter que, à côté de la transformation en endoperoxydes par la cyclooxygénase, les acides gras libérés des phospholipides membranaires peuvent également être transformés par une lipoxygénase en acides gras hydroxylés non cyclisés tels que l'acide 12.L. hydroxyarachidonique ou "12.L. hydroxy 5,8,10,14 eicosatetraenoic acid" (HETE) dont le rôle semble important dans la migration leucocytaire (cf 2ème partie).

Le poumon dans son ensemble est un organe très actif de biosynthèse des PGs particulièrement des thromboxanes et de la prostacycline. Cependant, l'identification des cellules pulmonaires responsables n'est que très incomplètement élucidée du fait de la grande hétérogénéité des populations cellulaires de cet organe, chacune d'elles ayant probablement une sensibilité particulière aux stimuli spécifiques et libérant les PGs selon un profil donné. De plus, seul un petit nombre de cellules pulmonaires sont spécifiques de cet organe, telles les cellules épithéliales, les fibroblastes, les cellules musculaires lisses et endothéliales, toutes étant impliquées dans la physiologie pulmonaire au sens strict. A l'opposé, un grand nombre de cellules présentes dans le poumon proviennent de la moelle osseuse et sont impliquées dans les mécanismes de défense et particulièrement le processus inflammatoire, les réactions immunologiques, l'épuration particulaire et de nombreux autres processus assurant l'homeostasie; il s'agit des macrophages alvéolaires, des polynucléaires, des mastocytes, des lymphocytes et des plaquettes sanguines. La libération de prostaglandines par le poumon a donc une signification très large et complexe.

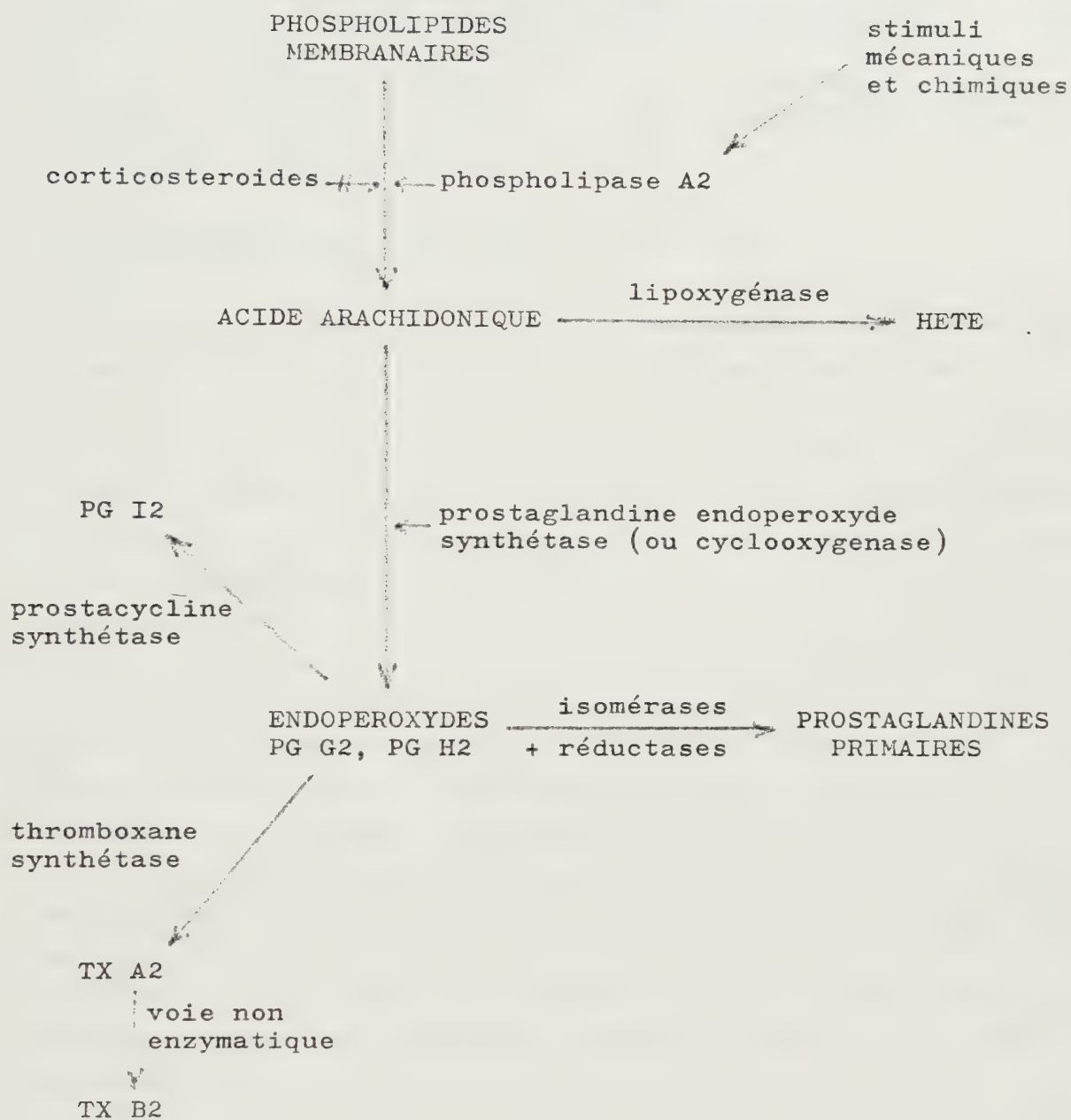
+ Inactivation des prostaglandines

Les prostaglandines ne sont pas stockées mais immédiatement synthétisées dans les membranes cellulaires et libérées à l'intérieur même de la membrane ou à l'extérieur de la cellule pour agir sur des récepteurs membranaires spécifiques. Leur devenir peut ensuite être de deux ordres :

- en général, elles sont réincorporées dans la cellule par l'intermédiaire d'un système de transport actif et métabolisées en dérivés inactifs grâce à l'action d'enzymes cytoplasmiques; cette inactivation est essentiellement le fait de la 15 hydroxy-prostaglandine deshydrogénase ou 15 OH - PGDH.
- occasionnellement, une partie des prostaglandines libérées passe dans les liquides extracellulaires et le sang pendant quelques minutes avant d'être captées par les cellules et inactivées par la 15 OH - PGDH; ce mécanisme est particulièrement actif au niveau du poumon dont l'endothélium vasculaire est très riche en 15 OH - PGDH et qui assure ainsi la dégradation des prostaglandines circulantes à l'exception de la PG I₂ (peut être par absence de système de transport intracellulaire pour cette prostaglandine), exerçant par là un double effet de protection contre la thrombose. Ainsi, synthétisées à la demande à proximité de leur lieu d'action et rapidement catabolisées, les prostaglandines sont d'une manière générale des médiateurs locaux avec comme principale exception la prostacycline considérée par certains comme une véritable "hormone" circulante.

En résumé, il faut insister sur l'importance considérable qu'a représenté la découverte de la prostacycline dans la compréhension du rôle physiologique des prostaglandines, à savoir :

- . l'importance mineure des PGs primaires, à quelques exceptions près.
- . le rôle fondamental des endoperoxydes comme plaque tournante du métabolisme de l'acide arachidonique.
- . le système de balance résultant des propriétés opposées de TX A₂ et PG I₂.
- . l'importance de nouveaux produits apparentés comme l'HETE.



PRINCIPALES VOIES DE LA
BIOSYNTHESE DES PROSTAGLANDINES

FIGURE IV

A.2 - LE COMPARTIMENT BRONCHIOLOALVEOLAIRE

Comme le compartiment trachéobronchique, il met en jeu des facteurs mécaniques, cellulaires et humoraux dotés de certains caractères particuliers.

a - EPURATION ALVEOLAIRE MECANIQUE (26 - 42)

Les particules dont le diamètre aérodynamique est inférieur à 3 microns peuvent atteindre les alvéoles pulmonaires qui sont des sacs polyédriques d'un diamètre moyen de 250 à 300 microns situés à l'extrémité des voies de conduction de l'air et dont la surface interne constitue la zone d'échanges gazeux. La contraction de l'alvéole facilite l'expulsion de son contenu vers le canal alvéolaire puis vers le tapis mucociliaire bronchique. Cette épuration alvéolaire dépend en particulier de la fréquence respiratoire (le dépôt particulaire étant minimal à la fréquence physiologique) et de la présence au niveau de l'alvéole d'un film liquidien distinct de la sécrétion bronchique et caractérisé par une substance lipoprotéique sécrétée par les pneumocytes de type II, le surfactant, qui diminue la tension superficielle de la surface de séparation gaz-liquide alvéolaire. Or, outre ses propriétés tensioactives fondamentales, et bien que ne possédant pas d'activité antimicrobienne proprement dite, le surfactant intervient dans les processus d'épuration pulmonaire de deux manières :

- en facilitant l'élimination alvéolaire de matériaux tels que débris cellulaires ou corps étrangers. En effet, le renouvellement incessant des molécules de surfactant implique le déplacement des molécules tensioactives des zones à haute concentration vers les zones à faible concentration avec pour conséquence la création de microcourants susceptibles d'entraîner vers les bronchioles ou de mettre en contact avec les macrophages tous les corps étrangers intraalvéolaires, ce qui facilite leur élimination.

- en activant directement le pouvoir bactéricide des macrophages alvéolaires comme cela a été démontré in vitro mais selon un mécanisme imprécis dans lequel le rôle des lécithines a été invoqué (certains auteurs pensent que les lécithines fixées sur la surface des bactéries facilitent la bactéricidie par les macrophages; or la fraction lipidique du surfactant, qui représente 90% du poids total, est constituée essentiellement de phospholipides saturés et plus précisément de lécithines..).

Enfin, la toux, réflexe neurogène, augmente de façon considérable le rendement de ces moyens mécaniques, tant au niveau alvéolaire que bronchique, à la condition d'une bonne coordination neuromusculaire et ventilatoire.

b) - MOYENS DE DEFENSE TISSULAIRES (29 - 36 - 64)

Outre l'épuration mécanique liée à la contraction de l'alvéole, le compartiment bronchioloalvéolaire réalise une épuration beaucoup plus lente que le compartiment trachéobronchique, assurée essentiellement par les macrophages alvéolaires qui sont présents au sein même de l'alvéole et qui appartiennent au système des phagocytes mononucléés; ils sont capables d'ingérer les particules infectantes parvenues jusqu'à l'alvéole et de les dégrader grâce à leurs enzymes protéolytiques et, survivant ou non à cette épreuve, ils sont alors soumis soit à un passage transseptal et à une prise en charge par les lymphatiques interstitiels soit à une remontée vers les bronches après passage du collet bronchiolaire. Dans l'alvéole se trouvent également des immunoglobulines transsudées du sérum et du complément. Enfin, à côté des macrophages alvéolaires coexistent, soit dans la lumière alvéolaire soit dans l'interstitium en état de migration ou de margination intravasculaire, des lymphocytes et des polynucléaires dont le recrutement dépend certainement, comme au niveau trachéobronchique, du type et de l'importance de l'agression.

En définitive, le rôle des cellules phagocytaires apparaît également fondamental au niveau de l'alvéole qui, en ce qui concerne les macrophages, présente un intérêt particulier pour plusieurs raisons :

- le siège de ces cellules à un interface air-tissu a pour conséquence l'exposition directe aux microorganismes inhalés et aux toxines de l'environnement.
- le milieu aérobie de l'alvéole a conduit ces cellules à développer des adaptations métaboliques particulières.
- le perfectionnement de la technique de lavage broncho-alvéolaire par fibroscopie bronchique permet l'obtention facile de macrophages tant chez l'homme que chez l'animal et fournit donc un matériel d'observation précieux.

Parmi les caractéristiques du macrophage alvéolaire, nous mentionnerons les faits suivants :

+ origine et cinétique du macrophage alvéolaire

. le macrophage alvéolaire dérive du monocyte circulant provenant lui-même de cellules souches de la moelle osseuse comme le prouvent diverses expériences:

- chez l'animal ayant reçu une irradiation corporelle totale à dose léthale suivie de l'injection de cellules médullaires d'un donneur, la population macrophagique alvéolaire est remplacée substantiellement par des cellules provenant du donneur (la distinction se faisant à l'aide de marqueurs enzymatiques, antigéniques ou génétiques).

- la preuve directe de l'origine médullaire du macrophage alvéolaire humain provient d'études chez des patients ayant reçu des transplants de moelle osseuse allogénique provenant de sujets consanguins de sexe opposé; ces études portaient sur les macrophages alvéolaires des receveurs et le chromosome Y fluorescent était pris comme marqueur des macrophages de caractère mâle. Après greffe de moelle osseuse d'un donneur mâle à un receveur femelle, il y avait augmentation progressive dans le temps du pourcentage de macrophages alvéolaires contenant le chromosome Y fluorescent. En transplantation de donneur femelle à un receveur mâle, il y avait disparition des macrophages contenant le chromosome Y fluorescent.

Les courbes de repeuplement en fonction du temps ont montré que, dans le cas de transplantation médullaire, les macrophages de l'hôte étaient remplacés en moins de 100 jours.

. Le précurseur direct du macrophage alvéolaire semble être une cellule interstitielle dérivée du monocyte circulant et c'est peut être dans le tissu interstitiel pulmonaire que le macrophage développe les caractères fonctionnels et métaboliques qui le distinguent du monocyte circulant; il est montré que le matériel acellulaire de revêtement du poumon exerce une activité chimiotactique à l'égard des macrophages alvéolaires, servant probablement à diriger le flux de ces cellules (56).

. La capacité de prolifération du macrophage alvéolaire est prouvée chez l'animal et chez l'homme : il est en effet démontré par autoradiographie que les macrophages alvéolaires humains sont capables d'une synthèse programmée de DNA. Chez le sujet normal, l'index de marquage à la thymidine tritiée est de l'ordre de 1%, suggérant que seule une petite fraction de la population cellulaire est en réplication. Chez des patients en leucémie aigue, sous chimiothérapie intensive, les macrophages alvéolaires restent en même nombre pendant de longues périodes de monocytopenie et conservent leur aptitude à synthétiser du DNA, ce qui suggère que chez l'homme la population macrophagique alvéolaire peut s'autoentretenir par division dans le poumon.

Ainsi, il apparaît que les macrophages alvéolaires proviennent de précurseurs médullaires mais peuvent maintenir leur nombre dans le poumon par prolifération locale. Ce renouvellement doit compenser la perte continue de macrophages alvéolaires dans les voies aériennes et les canaux lymphatiques.

+ caractères morphologiques et métaboliques du macrophage alvéolaire

- le macrophage alvéolaire, qui se trouve en contact avec le film liquidien recouvrant l'alvéole, a une taille variable de 15 à 50 microns de diamètre. Porteur en général d'un seul noyau souvent excentrique, le macrophage alvéolaire est caractérisé principalement par une membrane ondulante hérissée de voiles hyaloplasmiques, par la présence de structures contractiles et par l'existence d'abondantes inclusions

correspondant à des lysosomes riches en enzymes et à des vacuoles de phagocytose (des "inclusions des fumeurs" caractéristiques ont été décrites). Des récepteurs membranaires de surface ont été identifiés sur les macrophages alvéolaires pour le fragment Fc des Ig G et pour le composant C3 du complément.

- La présence d'eau oxygénée et d'halogène est prouvée mais la présence d'une peroxydase distincte de la myeloperoxydase des polynucléaires est discutée. Le pouvoir bactéricide des macrophages alvéolaires serait stimulé par un lipide du surfactant qui subirait après phagocytose une peroxydation aboutissant à la formation d'un agent capable d'activer la bactéricidie (le macrophage alvéolaire joue certainement un rôle important dans la clearance du surfactant).

- à la différence des autres cellules phagocytaires tissulaires, l'énergie métabolique des macrophages alvéolaires au cours de la phagocytose dépend à la fois de la phosphorylation oxydative (métabolisme énergétique intramitochondrial faisant intervenir les cytochromes) et de la glycolyse. Ainsi, les macrophages alvéolaires fraîchement récoltés contiennent beaucoup de cytochrome oxydase et peu de pyruvate kinase et de phosphofructokinase ce qui est compatible avec un métabolisme énergétique essentiellement aérobie; au contraire, les macrophages péritoneaux contiennent peu de cytochrome oxydase et beaucoup de pyruvate kinase et de phosphofructokinase en rapport avec un métabolisme énergétique anaérobie. En outre, in vitro, l'incubation de macrophages alvéolaires en anaérobie aboutit à une transition vers un modèle enzymatique semblable à celui du macrophage péritonéal. Cette observation in vitro suggère que in vivo :

- . en cas d'hypoxie aigue, le dysfonctionnement du macrophage alvéolaire pourrait être le résultat d'interférences avec des processus énergétiques.

- . en cas d'hypoxie chronique, le macrophage alvéolaire doit pouvoir adapter son équipement métabolique de façon appropriée.

- enfin l'activité des macrophages alvéolaires peut être déprimée à la suite de la phagocytose de polluants atmosphériques inhalés en excès ou de particules virales.

B - MISE EN JEU ET FAILLITE DES MOYENS DE DEFENSE : L'ETAT INFECTIEUX PULMONAIRE

L'ensemble des mécanismes énoncés permet de concevoir le poumon comme un organe capable, jusqu'à un certain point, d'épurer ou d'éliminer spécifiquement un agent infectant.

- La mise en jeu de ces moyens semble régie par un certain nombre de lois :

- . la constance de leur mise en oeuvre
- . l'importance des moyens de défense de surface : tapis mucociliaire et S-Ig A, surfactant et macrophages alvéolaires
- . la complexité des mécanismes mis en jeu dans la réaction inflammatoire et l'intimité des rapports entre facteurs cellulaires et humoraux
- . la relative autonomie en matière immunitaire. En effet, les agents infectants qui ont pu, par leur virulence ou leur nombre, pénétrer le mucus ou atteindre l'alvéole, vont être reconnus comme tels c'est-à-dire que les propriétés antigéniques de certains de leurs composants (membranaires, capsulaires..) vont être prises en compte par les organes lymphoïdes mais cette réponse immunitaire semble proportionnelle à l'agression avec :

- d'une part un effet seuil supposant un afflux microbien suffisant pour qu'apparaisse une production locale d'anticorps

- d'autre part un effet de recrutement où seraient mises en oeuvre d'abord les structures lymphoïdes locales (bronchiques et alvéolaires) puis, par l'augmentation du débit d'agents infectants, les structures lymphoïdes centrales (rate en particulier).

- La faillite d'un ou plusieurs de ces moyens de défense aboutit à l'état infectieux pulmonaire, parfois en relation avec d'autres facteurs favorables au développement bactérien.

En effet, si un épisode infectieux occasionnel peut résulter d'une sensibilité passagèrement accrue à l'infection bactérienne (comme après une virose), la répétition de ces épisodes infectieux conduit à la notion de terrain favorisant qui fait intervenir :

- + soit des conditions bactériologiques favorables, locales (foyer infectieux chronique à distance) ou générales (diabète)
 - + soit des conditions anatomiques ou/et fonctionnelles favorisant la stase bactérienne (destructions bronchiques ou alvéolaires, troubles ventilatoires, troubles sécrétoires)
 - + soit une déficience acquise ou congénitale des moyens de défense mécaniques, humoraux ou cellulaires
- l'ensemble de ces éléments pouvant s'intriquer plus ou moins et s'aggraver réciproquement, réalisant un véritable cercle vicieux.

Ainsi, en ce qui concerne les infections respiratoires récidivantes, il est classique de rechercher systématiquement :

- un foyer infectieux à distance, en particulier ORL ou dentaire, parfois totalement asymptomatique
- une lésion locale en cas de récurrence dans le même territoire : cancer bronchique, bronchectasies, bulle d'emphysème
- une irritation chronique (tabac en particulier) altérant les moyens de défense de surface
- une leucopénie d'origine hématologique ou thérapeutique (radiothérapie, chimiothérapie cytotoxique)
- un déficit de l'immunité à médiation humorale ou cellulaire supportée par les lymphocytes B et T (49), soit primaire (chez l'enfant surtout), soit secondaire à une affection maligne atteignant le système lymphoplasmodocytaire ou à un traitement (corticothérapie, radiothérapie, chimiothérapie cytotoxique ou immunosuppressive). Il faut noter que si le lien entre une carence immunitaire centrale et sévère et les infections itératives bronchopulmonaires ne fait pas de doute, il n'en va pas tout à fait de même avec les déficits isolés de l'immunité locale reposant sur les Ig A sécrétoires dont la carence, palliée le plus souvent par une production accrue d'autres immunoglobulines, ne semble pas constituer un facteur de risque majeur dans la plupart des cas.

Or, une nouvelle orientation se précise depuis peu avec les meilleures possibilités d'investigation de la réponse inflammatoire au sens large, qu'il s'agisse des protéines de l'inflammation (complément en particulier) ou des cellules phagocytaires (migration, phagocytose, bactéricidie). C'est dans cet ordre d'idée que nous abordons maintenant l'étude des mouvements des cellules phagocytaires.

DEUXIEME PARTIE

LA MIGRATION LEUCOCYTAIRE

Longtemps reléguée au second plan depuis sa description par METCHNIKOFF à la fin du siècle dernier, la phagocytose est maintenant reconnue comme l'un des mécanismes fondamentaux de la défense antimicrobienne de l'organisme et l'on assiste depuis peu à une explosion de données nouvelles concernant le fonctionnement des cellules phagocytaires. La locomotion de ces cellules est une des fonctions qui soulève actuellement un grand intérêt (14 - 39).

I - DIFFERENTS ASPECTS DE LA LOCOMOTION LEUCOCYTAIRE (66)

Pour éviter toute confusion, il est important de commencer par préciser la nature de la locomotion leucocytaire et les modifications que des substances chimiques peuvent déterminer sur elle. En effet, ces cellules sont capables d'une locomotion spontanée au hasard que des substances chimiques peuvent influencer, selon les circonstances, sur le plan de la vitesse de déplacement et de la direction dans laquelle les cellules se déplacent. Un point essentiel est que le déplacement de la cellule se fait toujours selon une certaine orientation des structures cellulaires impliquant si nécessaire une rotation de la cellule sur elle même, préalable à tout mouvement linéaire. Il convient donc de distinguer 3 types de locomotion leucocytaire :

1) LA LOCOMOTION AU HASARD (random locomotion)

La locomotion au hasard correspond à un déplacement dont l'axe n'est pas orienté en fonction d'un stimulus quel qu'il soit et dans lequel la cellule ne manifeste ni préférence ni répulsion pour une direction particulière.

2) LA CHIMIOCINESIE (chemokinesis)

La chimiocinésie est une réaction par laquelle la vitesse ou la fréquence des déplacements et/ou l'amplitude ou la fréquence des rotations des cellules sont déterminées par des substances de leur environnement. Des facteurs chimiocinétiques peuvent modifier la vélocité des cellules se déplaçant au hasard (migration non dirigée accélérée); il s'en suit une sorte de louchissement des cellules marqué par une alternance d'augmentation et de diminution de la mobilité cellulaire.

3) LA CHIMIOTAXIE (chemotaxis)

La chimiotaxie est une réaction par laquelle la direction du mouvement des cellules est déterminée par des substances de leur environnement. Le terme de migration dirigée n'est pas strictement synonyme de chimiotaxie; la migration dirigée peut en effet être déclenchée par une substance chimique attractante (chimiotaxie proprement dite) mais pourrait aussi résulter d'autres types d'influences attractantes ou bien d'un guidage par contact; néanmoins il n'a jamais été observé de leucocytes se déplaçant de façon dirigée par d'autres mécanismes que chimiotactiques.

Ainsi, des facteurs attractants peuvent occasionner des réactions chimiocinétiques de la part des leucocytes et la rapidité de migration est déterminée par la concentration absolue de substance attractante en l'absence de gradient. Les mêmes substances peuvent aussi être chimiotactiques lorsque les cellules sont placées dans un gradient et ce double effet doit être pris en compte dans l'appréciation des réponses cellulaires aux chimioattractants.

Il est important d'insister sur le fait que la réponse chimiotactique d'une cellule ne peut s'exercer que sur un support, impliquant la présence d'une rampe "mécanique" à côté de la rampe "chimique" représentée par le gradient de facteur chimiotactique. L'importance de l'adhérence de la cellule à son support est illustrée par l'image de l'escargot (BESSIS) selon laquelle le trajet de la cellule est marqué par une traînée de points d'adhérence fluorescents par la technique de fluorescence en phase inverse.

II - MOYENS D'ETUDE DE LA LOCOMOTION LEUCOCYTAIRE

Nous envisageons ici la locomotion des polynucléaires et des monocytes, en mentionnant simplement que la chimiotaxie a également été reconnue chez les polynucléaires eosinophiles et basophiles et même chez les lymphocytes. Les méthodes d'étude in vitro sont à distinguer des méthodes in vivo et les corrélations entre les deux soulèvent bien des discussions.

(a) - METHODES D'ETUDE IN VITRO (66)

Après divers essais abandonnés du fait de leur manque de fiabilité et de reproductibilité, les méthodes d'étude de la locomotion leucocytaire in vitro peuvent actuellement être classées en 2 catégories : les unes reposent sur l'observation directe des cellules en mouvement soumises ou non à l'influence de facteurs chimioattractants (en général par microcinématographie discontinue image par image); les autres permettent l'analyse indirecte de la migration d'un échantillon ou d'une population cellulaire, habituellement soumise à l'influence de facteurs chimioattractants (le plus souvent par chambre de BOYDEN à filtre micropore, plus rarement par une technique sous couche d'agarose). Ces deux voies d'approche abordent la locomotion leucocytaire à des points de vue différents et fournissent des informations qui, malgré certains chevauchements, sont de nature différente.

a.1 - Observation directe des cellules en mouvement

Cette observation microscopique entre lame et lamelle avec généralement prises de vues image par image, ne pose pas de gros problème technique mais le point délicat réside dans la création d'un gradient correct de facteur chimiotactique et dans l'interprétation des faits observés.

Les leucocytes, en particulier les neutrophiles, sont des cellules qui se déplacent relativement vite, par rapport aux fibroblastes par exemple, et la morphologie des leucocytes en mouvement est maintenant très bien décrite. La plupart des auteurs s'accordent sur le fait que l'évènement initial survenant dans la cellule qui se déplace est l'apparition d'une membrane hyaline étalée comme un voile (le lamellipodium) désignant l'extrémité antérieure de la cellule qui peut prendre un aspect très ébouriffé. Initialement, cette partie ne contient pas d'organelles cytoplasmiques, celles-ci restant dans la portion postérieure de la cellule qui est plus nettement délimitée; il peut se former une queue cellulaire avec ou sans fibres de rétraction. Au cours de la locomotion, cette morphologie orientée se maintient; la cellule s'allonge tandis que le lamellipodium se déploie en avant et que le contenu cytoplasmique s'écoule vers la partie antérieure de la cellule. Sur du verre, les neutrophiles glissent sur le substrat en réalisant des adhérences transitoires et assez légères, en comparaison des adhérences plus fermes et durables des fibroblastes. Il n'est pas facile d'étudier les effets de facteurs chimiotactiques sur ces évènements, surtout du fait de la difficulté d'établir un gradient stable dans ces préparations entre lame et lamelle. Néanmoins, l'amélioration des procédés techniques permet d'observer, avec des substances attractantes bien définies, des effets à la fois sur la vitesse et sur la direction des cellules :

+ a.1.1 - analyse visuelle de la chimiocinésie

Des leucocytes filmés dans une solution standard ne manifestent que très peu de déplacements; l'addition à ce milieu de caséine en concentration uniforme sans aucune source de gradient provoque une accélération de leur locomotion, c'est-à-dire une réaction chimiocinétique (ce qui peut être analysé en calculant la surface délimitée par le parcours de la cellule pendant un temps donné).

+ a.1.2 - analyse visuelle de la chimiotaxie

+ + a.1.2.1 - Les méthodes faisant intervenir comme source de gradient des facteurs solides (bactéries, levures, érythrocytes altérés..) sont relativement bien contrôlées. Il est possible d'établir un "rapport chimiotactique" (McCUTCHEON) en relevant le tracé des chemins parcourus par les leucocytes exposés à un tel gradient chimiotactique et en quantifiant la réponse dirigée des cellules placées dans ce gradient; ce rapport chimiotactique se définit comme le rapport de la distance nette parcourue par une cellule en direction ou à l'opposé du facteur testé sur la distance totale parcourue par la cellule, avec comme valeurs limites du rapport : +1 pour un mouvement en droite ligne vers le facteur et -1 pour un mouvement directement opposé. Cette analyse montre que la présence d'un gradient chimiotactique incite les cellules à présenter un déplacement extrêmement net en direction de la source du gradient. De plus, une observation importante montre que les cellules placées dans un gradient s'orientent vers la source du gradient avant de commencer leur déplacement ce qui suggère que les cellules sont capables de détecter le gradient le long d'elles-mêmes. Ceci est un argument contre un système de perception "temporel" où la cellule s'orienterait en "testant" le gradient à différentes reprises car ceci impliquerait que la cellule se déplace avant la détection du gradient. Cette observation est plutôt compatible avec un système de perception "spatial" dans lequel la cellule intègre les concentrations de facteurs attractants en différents points de sa propre surface et peut ainsi détecter les différences de concentration entre ses parties antérieure et postérieure. Ainsi, le gradient aurait pour effet important de déterminer la direction dans laquelle la cellule s'oriente; des cellules se déplaçant selon un angle de plus de 30° par rapport à la source du gradient sont tout à fait capables de faire leur rotation suivante en direction de la source.

Ces études montrent également que les leucocytes sont capables, après migration dirigée vers un facteur solide et ingestion de celui-ci, de présenter une nouvelle migration dirigée vers un autre facteur solide après une brève période de latence. Le traitement des cellules par la colchicine augmente la plasticité et la déformabilité des cellules et leur fait suivre des chemins plus irréguliers avec parfois des orientations franchement opposées au facteur solide source de gradient, en général suivies de correction à la rotation suivante; l'effet de la drogue ne concerne ni la fréquence des déplacements ni la rapidité des neutrophiles mais principalement le sens de l'orientation des cellules : en effet, des neutrophiles normaux migrant vers des candida par exemple, ne dévient pas nettement de leur trajectoire et la plupart des rotations se font avec un angle de moins de 25° par rapport à la direction initiale alors que le traitement par la colchicine accroît l'angle de rotation des cellules (ceci ne les empêche pas néanmoins d'atteindre finalement leur cible et de l'ingérer); il semble que la colchicine affecte la migration leucocytaire par une action intracellulaire (en inhibant la polymérisation des microtubules) car le comportement de cellules immédiatement incubées avec le facteur chimiotactique en présence de colchicine est d'abord normal puis devient progressivement incoordonné.

+ + a.1.2.2 - Les méthodes faisant intervenir comme source de gradient des facteurs solubles ont été par contre longtemps délaissées ou critiquées, malgré l'intérêt capital de ces facteurs, du fait de la difficulté à situer la source mal perceptible de ces facteurs solubles. Cet obstacle peut être surmonté imparfaitement en faisant diffuser les facteurs solubles à partir de grains de Sephadex dans lesquels ils ont été introduits préalablement, ce qui permet de localiser la source du gradient; ainsi des neutrophiles peuvent être observés se déplaçant vers de tels grains mais les résultats sont plus imprévisibles qu'avec des candida par exemple du fait que la source du gradient est beaucoup plus grande et que le gradient de facteur soluble est probablement perturbé par des courants locaux; cette méthode nécessite donc d'être affinée.

La recherche d'un système permettant d'examiner le comportement de cellules individuelles dans des concentrations et des gradients connus de substance chimique attractante a conduit à la mise au point d'une nouvelle technique : une lame de plexiglas est creusée de 2 tranchées dans le sens de la largeur séparées par un pont étroit et le tout est recouvert par une lamelle fixée de façon étanche; le passage cellulaire demeure cependant possible au dessus du pont séparant les 2 tranchées qui contiennent des concentrations différentes de facteurs chimiotactiques (70).

Ainsi, l'observation directe des mouvements des cellules individuelles fournit des renseignements très utiles. Elle met en évidence sans équivoque la chimiocinésie et la chimiotaxie et permet une analyse détaillée du comportement locomoteur des cellules, et en particulier de leur orientation; les modifications de ce comportement liées à des médicaments ou à d'autres substances chimiques peuvent être étudiées de façon comparative. Ces données ne sont pas de même nature que celles fournies par l'autre groupe de méthodes.

a.2 - Analyse indirecte par chambre de migration

Cette deuxième catégorie de méthodes vise non pas à suivre les chemins parcourus par des cellules individuelles mais à mesurer l'effet de produits chimioattractants sur une population cellulaire, cette mesure étant effectuée au terme de la migration cellulaire. La méthode la plus couramment employée est celle de la chambre de migration à filtre micropore.

+ a.2.1 - description (7 - 45)

Cette technique introduite par BOYDEN en 1962 consiste en une "chambre" faite de 2 compartiments séparés par un filtre micropore : le compartiment supérieur contient la suspension de cellules à étudier et le compartiment inférieur le milieu chimiotactique (ou présumé tel lorsqu'il s'agit de mettre en évidence un facteur chimiotactique). Après incubation, le filtre micropore est prélevé, fixé, coloré et observé au microscope afin de déterminer le nombre de cellules ayant migré en direction du compartiment inférieur.

Les premières expérimentations ne comportaient que le comptage des cellules présentes sur la face inférieure du filtre ce qui était source d'imprécisions et même de contradictions car d'une part un certain nombre de cellules avait tendance à se détacher du filtre (d'où la mise au point de systèmes à double filtre, parfois associés à une méthode de radioanalyse comportant un marquage des leucocytes au ^{51}Cr -(24)-) et d'autre part les cellules ayant migré sans atteindre la face inférieure du filtre étaient ignorées. Il apparut donc extrêmement important de mesurer le nombre total de cellules en migration et la distance de migration parcourue par les cellules. Ceci est maintenant réalisable avec une méthode de filtre micropore modifiée comportant une chambre en acrylique transparent et un filtre habituellement en ester de cellulose de 150 microns d'épaisseur dans lequel les cellules migrent sans le traverser complètement (l'expérience est interrompue avant qu'elles ne puissent atteindre la face inférieure du filtre). Après incubation à 37° pendant 90 minutes, le filtre fixé et coloré est monté sur un châssis et examiné selon des plans de coupe distants de 10 microns grâce à une fine mise au point micrométrique. Cette méthode du "leading front" (premier plan) permet de compter les polynucléaires plan par plan et de définir un index chimiotactique en fonction de la distance parcourue par ces cellules : ainsi, le nombre de cellules comptées sur un champ microscopique est multiplié par la distance de ce plan par rapport au plan de départ; ensuite tous les produits obtenus sont additionnés et leur somme est divisée par le nombre total de cellules ayant migré. Le nombre obtenu est l'index leucotactique (LI) qui correspond à la distance moyenne parcourue par les cellules en 90 minutes d'incubation dans la chambre. L'index leucotactique moyen établi avec des cellules ou un sérum de référence correspond arbitrairement à une inhibition nulle de la leucotaxie (0%). Les variations par rapport à cette valeur peuvent être calculées avec l'équation suivante :

$$\% \text{ d'inhibition de la leucotaxie} = \frac{\text{LI contrôle} - \text{LI malade}}{\text{LI contrôle}} \times 100$$

Une inhibition de la leucotaxie de plus de 14% est considérée comme anormale de façon significative. En outre, par une analyse comparative des résultats obtenus sous l'influence d'une concentration absolue du produit attractant et d'un gradient de concentration de celui-ci, la technique du "leading front" permettrait de faire la distinction entre chimiotaxie et chimiocinésie; ceci suppose néanmoins admis que le gradient est stable et linéaire entre 2 points. A noter que dans la méthode du filtre les cellules traitées par la colchicine perdent toute capacité à détecter un gradient de facteur chimiotactique alors qu'entre lame et lamelle elles manifestent seulement une perte du sens d'orientation ne les empêchant pas d'atteindre la cible en définitive. Cette différence est certainement liée à la matrice tortueuse du substrat sur lequel les cellules se meuvent dans le filtre et qui fait que les cellules doivent suivre des chemins très indirects pour atteindre la surface inférieure. Ainsi, il suffirait d'une légère défaillance de l'orientation cellulaire (comme celle produite par la colchicine) pour que l'effet chimiotactique à travers le filtre soit en même temps perdu. A ce point de vue, il est peut être tout à fait remarquable que les cellules normales soient capables de manifester des réponses chimiotactiques aussi nettes dans les filtres.

Enfin, cette méthode est également applicable à la mesure de la chimiotaxie des monocytes avec un filtre légèrement différent et une durée d'incubation plus longue (57).

NB : Une autre technique basée sur la migration des cellules sous un gel d'agarose (48) permettrait de mesurer spontanément la chimiotaxie et la migration spontanée in vitro : une plaque d'agarose est creusée de 3 tranchées contenant l'une un stimulus chimiotactique, une autre un milieu non chimiotactique de part et d'autre d'une tranchée centrale contenant les cellules. Après incubation, fixation et coloration, la distance linéaire que les cellules ont parcourue du bord de leur tranchée vers le stimulus chimiotactique A et vers le milieu de contrôle B est mesurée et sert à quantifier la "différence chimiotactique" ($A - B$) et à établir un "index chimiotactique" (A/B). Quoiqu'il en soit, il semble que l'application de cette méthode soit de réalisation délicate et ses avantages par rapport à la méthode de BOYDEN (et ses variantes couramment employées) ne sont pas clairement démontrés mais une nouvelle méthode sous agarose modifiée s'annonce prometteuse. (8).

+ a.2.2 - application clinique : test des cellules

Il s'agit d'une méthode à filtre micropore utilisée en pratique courante pour étudier la migration in vitro des polynucléaires neutrophiles en ce qui concerne d'une part la migration non stimulée (en l'absence de facteur chimiotactique) et d'autre part la migration activée par un facteur chimiotactique (zymosan, facteur bactérien...). La mesure ne porte que sur la distance parcourue avec "d" pour la migration non activée, et "D" pour la migration activée, "D-d" correspondant à la migration sous l'influence du facteur attractant. Avec des polynucléaires normaux, il apparaît que l'action du facteur chimiotactique porte plus sur le nombre de cellules qui répondent que sur la distance de migration; néanmoins cette méthode recourant à la mesure de la distance parcourue par la technique du "leading front" permet une approche critique assez fine de la chimiotaxie.

En somme, cette méthode d'analyse de la leucotaxie par chambre de migration permet de prendre en compte, dans sa version complète, à la fois le nombre de cellules migrant et la distance de migration. Malgré certains problèmes de standardisation des filtres, c'est une méthode reproductible permettant d'obtenir des courbes dose-réponse précises. Il s'agit enfin d'une méthode fastidieuse mais qui doit pouvoir être facilitée grâce à des appareils de comptage automatique (certains permettant même de calculer l'index leucotactique instantanément).

Ainsi, les diverses méthodes d'étude de la migration leucocytaire in vitro sont d'un intérêt considérable pour comprendre le mode d'intervention des leucocytes, préciser la biologie cellulaire et moléculaire de la locomotion et même apprécier de façon quantitative la migration leucocytaire. Quoiqu'il en soit, les conditions d'étude de la chimiotaxie in vitro sont beaucoup trop simplifiées pour servir de modèle de réaction inflammatoire d'où l'intérêt de l'analyse de la chimiotaxie sur le sujet lui-même en réponse à une inflammation expérimentale.

b - METHODES D'ETUDE IN VIVO

La plupart des études cliniques portant sur la migration des neutrophiles in vivo ont fait appel à la technique de la fenêtre cutanée à partir des travaux de REBUCK et CROWLEY en 1955. Jusqu'à présent, aucune de ces techniques ne permettait une appréciation quantitative de la migration leucocytaire contrairement à la méthode proposée par P. LAURENT de l'Institut PASTEUR de LYON dont nous reproduisons ci-après, avec son autorisation, la présentation ayant fait l'objet de publication (40): "

- INTRODUCTION

Une migration leucocytaire correcte est indispensable pour l'efficacité des défenses de l'hôte. Un grand nombre d'observations souligne la relation étroite entre complications infectieuses et altérations acquises ou héritées de la migration leucocytaire. Les techniques de REBUCK et CROWLEY, la technique avec chambre de SENN, les techniques utilisant le contenu d'une papule inflammatoire induite, ne sont que qualitatives et très difficilement reproductibles. Ceci est lié aux conditions expérimentales difficiles. Nous proposons une nouvelle technique d'étude in vivo de mobilisation leucocytaire, à partir d'une abrasion cutanée. Cette méthode permet une appréciation qualitative et quantitative de la migration des leucocytes.

- MATERIEL ET METHODES

+ la technique :

. l'abrasion cutanée : elle est effectuée mécaniquement sur la face antérieure de l'avant bras. Aucune préparation ou traitement de la peau n'est nécessaire, seul est appliqué du sérum physiologique stérile. Une meule abrasive type N reliée par l'intermédiaire d'un flexible à un moteur rotatif électrique tournant à 2400 tours par minute est utilisée pour abraser. Simultanément, la peau est refroidie avec du sérum physiologique à + 4°C. La bonne qualité de l'abrasion cutanée est authentifiée par l'obtention d'une sérosité claire non hémattique. La surface d'abrasion est rendue reproductible par l'utilisation d'une meule dont la surface abrasive est toujours la même. La surface d'abrasion n'a, dans notre technique, que peu d'importance du fait du mode de lecture de la technique. L'abrasion érode l'épiderme sans dépasser la couche basale de Malpighi au delà de laquelle elle produirait une sérosité hémattique; la réalisation d'une abrasion correcte représente l'élément le plus délicat car le moins quantifiable, qui ne s'acquiert que par apprentissage.

. le matériel est constitué par la cellule de migration leucocytaire P.L. : elle est réalisée en verre siliconé, les tubulures en plastique silicone. La cellule est constituée de 2 compartiments : un compartiment supérieur dans lequel est placé un milieu réactif, un compartiment inférieur qui est en fait virtuel car constitué par l'espace de l'abrasion cutanée. Ces 2 compartiments sont séparés par un filtre micropore, de porosité 5 microns; ce filtre est collé à la partie inférieure du compartiment supérieur. Le compartiment supérieur est thermostaté et une agitation douce du milieu réactif est maintenue en permanence dans ce compartiment. Toute contamination du compartiment inférieur par le réactif contenu dans le compartiment supérieur est évitée par une régulation critique de la pression régnant dans le compartiment supérieur. Deux pompes à étirement type RP et un bain-marie complète ce matériel.

. le milieu réactif comporte 3 éléments principaux :
- 3 ml d'un milieu de culture cellulaire, type Phelps à 0,15M et pH compris entre 7,09 et 7,11
- 3 ml du sérum du témoin ou du patient
- 0,2 ml de gammaglobulines humaines purifiées et agrégées

+ le déroulement de la technique :

La cellule de migration leucocytaire P.L. prête à l'utilisation est posée et centrée sur l'abrasion cutanée. Elle est maintenue en place à l'aide d'un auto-collant. Le temps de migration est de 180 minutes. A l'issue de ces 180 minutes, le filtre est prélevé et préparé pour la lecture. L'abrasion cutanée est ensuite lavée au sérum physiologique et laissée à l'air libre. L'évolution de la cicatrisation est suivie régulièrement à 24,48 et 96 heures.

+ la lecture :

. elle succède à la préparation du filtre : fixation du filtre à l'alcool 100p. cent pendant 10 minutes, rinçage à H_2O , coloration à l'hématoxyline pendant 2 minutes, rinçage à H_2O , alcool à 70p. cent pendant 6 minutes, alcool à 95p.cent pendant 6 minutes, alcool à 100p. cent pendant 10 minutes, xylène pendant 20 minutes. Le filtre ainsi préparé est lu et conservé entre lame et lamelle fixées avec du baume du Canada.

. aspect du filtre : la couche initiale, en regard de l'abrasion cutanée, révèle des îlots leucocytaires plus ou moins riches en cellules. Ces îlots correspondent à l'émergence des leucocytes depuis les crêtes de la couche basale de Malpighi. La lecture du filtre et la quantification de la migration leucocytaire s'établissent à partir de ces îlots cellulaires; ainsi la surface d'abrasion n'a pas de valeur critique dans notre technique, seule la profondeur de l'abrasion est importante.

. la lecture proprement dit : elle nécessite un microscope de type Leitz 20 EB possédant un réglage de la profondeur de champ avec vis micrométrique. Trois éléments sont quantifiés sur le filtre :

- le nombre d'éléments cellulaires par îlots cellulaires
- la distance parcourue par les cellules à l'intérieur du filtre durant les 180 minutes; ce temps de migration est limité et ne permet pas aux cellules de s'échapper du filtre vers le compartiment supérieur

- calcul d'un index de migration appliquant la formule suivante :

$$I.M. = \frac{\text{(somme du nombre de cellules contenues sur la couche Nx) (distance entre couche initiale et couche Nx)}}{\text{somme totale du nombre de cellules sur les différentes couches N}}$$

Cinq îlots différents sont lus sur le filtre et l'index de migration final est la moyenne des 5 index de migration calculés. Le calcul du nombre de cellules par couche est effectué de 10 microns en 10 microns, depuis la couche initiale jusqu'à la couche terminale.

Exemple :

Couche	Nombre de cellules sur la couche Nx		Distance entre couche initiale et couche de lecture		Produit
N0	82	x	1	=	82
N1	82	x	10	=	820
N2	35	x	20	=	700
N3	22	x	30	=	660
N4	10	x	40	=	400
N5	5	x	50	=	250
N6	4	x	60	=	240
	240		Distance parcourue par les cellules 60 microns		3152

$$I.M. = \frac{3152}{240} = 13,13$$

- RESULTATS

ETABLISSEMENT D'UNE ECHELLE DE LECTURE DE REFERENCE :
elle est faite par application de la technique à une population témoin.

+ la population témoin :

Nous avons étudié 21 sujets recrutés parmi le personnel hospitalier ou universitaire. L'âge moyen de cette population est de 29,5 ans (valeurs extrêmes : 22 ans, 46 ans). Elle était composée de 12 hommes et 9 femmes. Cette population a été secondairement réduite à 15 personnes car :

- 4 sujets ont subi une abrasion insuffisante
- 2 sujets présentaient des états pathologiques bénins (rhinite allergique, syndrome grippal), qui ont amené des modifications significatives de l'index de migration et du bilan biologique complémentaire.

Un bilan biologique a été effectué sur chacun des témoins, ce bilan comportait :

- . dosage des composants C3, C4, facteur B dans le sérum
- . dosage de l'orosomucoïde sérique
- . dosage pondéral des Ig A, Ig G, Ig M sériques
- . numération globulaire et formule sanguine
- . numération plaquettaire.

+ données analytiques :

Les leucocytes sont exclusivement représentés par des polynucléaires neutrophiles. Le nombre moyen de cellules par filot leucocytaire est de 282 éléments sur la couche initiale (No) avec un écart type de 116,55. Sur l'ensemble des couches (de 10 microns en 10 microns) depuis la couche initiale No jusqu'à la couche terminale Nx, le nombre moyen d'éléments cellulaires est de 841 avec un écart type de 387.* La numération cellulaire dans le milieu réactif a toujours montré moins de 4 éléments par champ microscopique. La distance moyenne parcourue par les leucocytes entre la couche initiale No et la couche terminale Nx, pour un temps de migration de 180 minutes, à 37° C, est de 58,39 microns avec un écart type de 4,09. Les valeurs extrêmes sont 48,75 microns et 67,75 microns.

L'étude de la relation entre distance parcourue par les leucocytes dans le filtre et le nombre d'éléments cellulaires parcourant cette distance, montre que cette relation n'est pas linéaire, elle est de type sigmoïdien. Ceci permet d'exclure une migration passive à l'intérieur du filtre et est un argument en faveur d'un processus biologique actif.

Index de migration : la valeur moyenne sur nos 15 témoins est de 13,37 avec un écart type de 2,10; les valeurs extrêmes sont 16,58 à 10,58.

+ les témoins exclus :

Un témoin présentait une rhinite allergique en phase de poussée aigue. Le nombre de cellules par filot est de 351 éléments. La distance parcourue par les cellules est de 38 microns. L'index de migration est de 6,78. Le bilan biologique complémentaire en dehors d'une augmentation des Ig E sériques est normal.

Un témoin présentait un syndrome clinique post-grippal. Le nombre de cellules par filot cellulaire est de 480. La distance parcourue par les cellules est de 40 microns. L'index de migration est de 8,16. Le bilan biologique révéla une hyperleucocytose avec des lymphocytes d'aspect stimulé, et une augmentation de l'orosomucoïde.

- CONCLUSIONS

La cellule de migration P.L. permet une quantification de la migration leucocytaire et un contrôle objectif d'un certain nombre de paramètres critiques intervenant sur la technique proposée. Seule une étude prospective systématique de la pathologie affectant la migration parallèlement à des témoins apportera les éléments nécessaires à une conclusion analytique."

* Erratum de l'auteur : le nombre moyen d'éléments cellulaires est de 843 avec un écart type de 169.

III - FACTEURS CHIMIOTACTIQUES

Le nombre de facteurs doués d'un pouvoir chimiotactique à l'égard des leucocytes s'accroît régulièrement, donnant lieu à de longues énumérations qui ne sont que provisoirement exhaustives et dont il est difficile de faire ressortir l'importance respective de chacun de ces facteurs. Nous préférons donc, sur la base d'une classification proposée par WILKINSON (65), envisager ces facteurs chimiotactiques selon le type de réaction qui leur a donné naissance, en privilégiant certains modèles particulièrement intéressants dans l'analyse de la chimiotaxie des cellules phagocytaires (neutrophiles et macrophages) lors des infections bactériennes de l'appareil respiratoire. Ainsi, d'après WILKINSON, ces facteurs peuvent être divisés en 5 groupes :

- les produits des réactions immunitaires à médiation humorale libérés à distance des cellules, comme les fractions polypeptidiques chimiotactiques issues du complément activé par des réactions antigène-anticorps-complément.
- les produits des réactions immunitaires à médiation cellulaire libérés à distance des cellules c'est-à-dire les facteurs chimiotactiques d'origine lymphocytaire (lymphokines chimiotactiques).
- l'antigène lui même en réaction avec des anticorps cytophiles à la surface de la cellule migrante. En effet, lorsque des neutrophiles ou des macrophages porteurs d'anticorps cytophiles sont placés dans un gradient d'antigène et que les molécules antigéniques atteignent ces anticorps de membrane et s'y lient, la réaction induit une migration des cellules dans le sens du gradient de l'antigène. Les cellules ne répondent pas à d'autres antigènes qui ne réagissent pas avec l'anticorps cytophile de la membrane cellulaire.
- des substances endogènes produites au niveau des lésions tissulaires inflammatoires :

. substances libérées par des cellules mortes (necrotaxie) ou par des cellules vivantes qui répondent à une agression en libérant des substances solubles : d'une part molécules lipidiques chimiotactiques apparentées aux prostaglandines libérées

par diverses cellules, et d'autre part facteurs chimiotactiques produits par les cellules phagocytaires elles mêmes.

- . substances dérivées de réactions enzymatiques séquentielles concernant d'autres systèmes que le complément : coagulation, fibrinolyse et kallikreine.

- des substances produites par des microorganismes exogènes, tout particulièrement les facteurs chimiotactiques d'origine bactérienne qui correspondent essentiellement à des peptides maintenant bien définis et à un moindre degré à des lipides.

Ainsi, il apparaît que les cellules phagocytaires peuvent présenter une réponse chimiotactique d'une part à l'agresseur lui même (antigène), d'autre part à divers facteurs solubles produits soit par le système complémentaire, soit par un agresseur bactérien, soit encore par divers éléments mis en jeu au cours de la réaction inflammatoire, soit enfin par les lymphocytes.

Nous nous proposons donc de considérer successivement :

- les facteurs chimiotactiques dérivés du complément
- les peptides chimiotactiques d'origine bactérienne
- les facteurs chimiotactiques mis en jeu par la réaction inflammatoire :

- . dérivés chimiotactiques des systèmes de la coagulation, de la fibrinolyse et des kallikreines

- . molécules lipidiques chimiotactiques apparentées aux prostaglandines.

- . facteurs chimiotactiques libérés par les cellules phagocytaires elles mêmes

- les lymphokines chimiotactiques

- la chimiotaxie liée à l'antigène (antigène-dépendante).

1° - FACTEURS CHIMIOTACTIQUES DERIVES DU COMPLEMENT (20-21-46)

Les méthodes d'étude de la leucotaxie *in vitro* et *in vivo* ont permis d'établir le rôle important du système complémentaire dans l'accumulation des polynucléaires et macrophages au site d'une inflammation. Les facteurs chimiotactiques dérivés du complément sont le C5a surtout et le complexe trimoléculaire C567. Pour ce qui est du C3a, classiquement considéré aussi comme chimiotactique, des expériences récentes (20) ont montré qu'il était incapable d'induire une réponse leucotactique décelable dans une échelle de concentration variant de 8×10^{-10} à 8×10^{-6} M, ce qui suggère qu'il est en fait soit inactif soit extrêmement moins actif que le C5a sur la migration dirigée des leucocytes humains; la notion classique qui voulait qu'un dérivé du C3 soit chimiotactique pourrait s'expliquer soit par la présence de traces de C5 dans ces préparations de C3, soit par l'existence d'un fragment chimiotactique de C3 distinct du C3a.

Le C5a est de loin le principal facteur chimiotactique du complément. Il s'agit de la beta1F globuline, thermolabile, présente dans le sérum humain normal frais à un taux d'environ 75 microgrammes par ml. Le C5 est clivé par une C5 convertase en un gros fragment, le C5b (PM 195000) et un petit fragment, le C5a (PM 15000). Le C5 est composé de 2 chaînes peptidiques de tailles inégales : une chaîne alpha (PM 130000) et une chaîne beta (PM 80000) qui sont unies par des ponts disulfures et des liaisons non covalentes. Le C5a correspond à la portion NH₂ terminale de la chaîne alpha alors que le C5b correspond au reste de cette chaîne alpha plus la chaîne beta (PM = 115000 + 80000 = 195000). Le C5a est une glycoprotéine dont la fraction polypeptidique est formée de 74 acides aminés et dont la fraction glucidique représente 25% du poids total. Le résidu aminoacide en position C terminale est l'arginine et le C5a est rapidement transformé en C5a (desarg.) par une carboxypeptidase présente dans le sérum. Ce résidu arginine carboxyl terminal est nécessaire à l'activité du C5a, sa suppression par une carboxypeptidase aboutissant à une perte de l'activité anaphylatoxinique et

à une réduction de l'activité chimiotactique; ainsi, il faut à peu près 10 fois plus de C5a (desarg.) que de C5a intact pour obtenir une réponse chimiotactique optimale qui n'est encore qu'à 50% de celle produite par le C5a intact; cependant, ce C5a (desarg.) est susceptible de promouvoir de nouveau la leucotaxie in vitro en présence d'une infime quantité de sérum non activé, ce qui suggère que la forme circulante prédominante de ce facteur en présence d'une carboxypeptidase serait le C5a (desarg.) et qu'il existerait dans le sérum un facteur "helper" lui permettant d'exprimer son activité. En outre, il a été montré que le C5a manifeste une activité chimiotactique seulement dans la zone de concentrations comprises entre 0,04 et $1,7 \times 10^8$ M, ce qui sous-entend l'importance des mécanismes de régulation de la chimiotaxie induite par le C5a.

2° - PEPTIDES CHIMIOTACTIQUES D'ORIGINE BACTERIENNE (55)

Les expériences cherchant à isoler et caractériser les facteurs attractants produits par les bactéries induisant la leucotaxie ont montré, malgré le taux excessivement bas de ces produits, qu'il s'agissait essentiellement de peptides thermostables de faible PM (≤ 2000 daltons). De plus, il est apparu que ces peptides leucotactiques sont des peptides N. formyl Méthionyl (f Met) qui sont indispensables pour l'initiation de la synthèse protéique chez les bactéries, leur pouvoir chimiotactique étant augmenté par la présence de résidus hydrophobes (non polaires) en position C terminale qui accroissent leur affinité pour la double couche phospholipidique de la membrane cellulaire. Des résultats semblables ont été obtenus avec les macrophages.

L'hydrolyse de ces peptides par une peptidase leucocytaire semble être une étape obligatoire dans la mise en jeu de la leucotaxie. En effet :

- l'incubation d'un peptide formylé avec des neutrophiles aboutit à son clivage; ainsi, le ^{14}C f Met-Phe (marqué au ^{14}C sur le formyl) est clivé en f Met et en Phe mais ce clivage est très diminué dans les cellules traitées par des inhibiteurs

de protéases. Cet enzyme hydrolytique semble avoir une spécificité pour les résidus aromatiques du peptide.

- il y a une corrélation entre le pouvoir d'un chimioattractant et son taux de clivage : un bon attractant comme le f Met-Phe par exemple est hydrolysé de façon plus importante que le f Met-His qui a un faible pouvoir attractant.

- l'inhibition de l'hydrolyse des peptides attractants s'accompagne d'une inhibition de la chimiotaxie (ceci est valable pour les peptides de synthèse comme le f Met-Phe mais aussi pour les attractants peptidiques naturels qui constituent le facteur bactérien et également le C5a). A ce propos, il est intéressant de mentionner un fait noté lors d'observation directe de cellules migrant au dessus du pont séparant deux tranchées creusées dans une lame de verre et contenant des concentrations différentes de peptides : avec une densité cellulaire moyenne (de l'ordre de 100 cellules par mm^2), les cellules proches de la tranchée à faible concentration sont orientées en majorité du côté de la tranchée à forte concentration; en revanche, avec une forte densité cellulaire (500 cellules par mm^2) au dessus du pont, les cellules tendent à s'orienter vers le bord du pont le plus proche d'elles ("edge-effect"), ce qui suggère qu'un gradient s'est établi de chaque bord du pont vers le centre qui est marqué par une déplétion relative en peptides liée à leur inactivation importante et à l'insuffisance de leur renouvellement du fait de la forte densité cellulaire à ce niveau.

En somme, il apparaît que les facteurs bactériens stimulant puissamment la chimiotaxie peuvent être rattachés aux peptides formyl Méthionyl et que l'hydrolyse de ces peptides est sans doute une étape obligatoire dans la mise en jeu de la migration dirigée des cellules phagocytaires envers ces bactéries, cette mise en jeu se faisant par l'intermédiaire des nucléotides cycliques (cf physiologie cellulaire de la chimiotaxie). Or, comme les leucocytes répondent à des taux extrêmement bas de ces leucoattractants, il semble vraisemblable qu'il existe des récepteurs spécifiques de haute affinité sur ces cellules. En effet, l'analyse systématique des relations structure - activité des peptides de synthèse à pouvoir attractant sur les neutrophiles montre qu'il n'existe que quelques attractants

excessivement puissants (capables d'induire également la libération enzymatique lysosomale qui contribue à la réaction inflammatoire, sans doute par des mécanismes similaires) et que le pouvoir chimiotactique de ces peptides est d'autant plus grand qu'ils sont porteurs d'une part d'un groupe N. formyl, d'autre part d'un résidu hydrophobe en position C terminale et enfin d'un résidu aromatique en position 3 pour lequel l'enzyme hydrolytique a une grande spécificité. Ces caractères très spécifiques, rapprochés au fait qu'un peptide lié à l'inuline (qui ne subit pas de transport à travers la membrane cellulaire) demeure attractant, sont autant d'arguments pour l'existence d'un récepteur stéréospécifique sur la membrane cellulaire. L'enzyme hydrolytique pourrait d'ailleurs faire partie du site récepteur qui comporterait donc 2 zones : une zone de liaison sur laquelle la fixation du peptide donnerait naissance à un signal pour l'appareil de la motilité cellulaire et une zone hydrolytique qui cliverait le peptide et libérerait le récepteur de façon à permettre à la cellule de continuer à détecter le gradient de facteur chimiotactique. L'affinité des sites de liaison de ce récepteur a été établie à 1,5 nanomole par litre et le nombre de sites par cellule a été estimé à 10^5 .

3° - FACTEURS CHIMIOTACTIQUES MIS EN JEU PAR LA REACTION INFLAMMATOIRE

a - dérivés chimiotactiques des systèmes de la coagulation, de la fibrinolyse et des kallikreines

D'étroites relations existent entre la genèse de l'activité chimiotactique des leucocytes et les systèmes de la coagulation, de la fibrinolyse et des kallikreines. La coagulation, déclenchée par le facteur Hageman (contact) ou surtout par le facteur tissulaire (provenant des cellules endothéliales mais aussi des phagocytes) aboutit à la transformation du fibrinogène en fibrine avec libération d'un fibrinopeptide B chimiotactique. Le facteur Hageman ou facteur XII, outre son rôle de facteur contact activant la coagulation in vitro par formation

de thromboplastine endogène (rôle non indispensable in vivo) est également capable d'activer in vitro 2 autres systèmes : d'une part il peut transformer, par certains de ses fragments, la prékallikreine en kallikreine qui donne naissance aux kinines et qui est douée d'un pouvoir chimiotactique; d'autre part, il peut transformer le proactivateur du plasminogène en activateur capable aussi de chimiotaxie et transformant le plasminogène en plasmine responsable de la fibrinolyse dont certains produits sont encore chimiotactiques. Enfin, la plasmine peut également agir sur le composant C5 du complément pour libérer le C5a chimiotactique (cf FIGURE V) .

b - molécules lipidiques chimiotactiques apparentées aux prostaglandines (60).

Si certains composants lipidiques du facteur bactérien se sont montrés chimiotactiques (sans commune mesure avec les peptides chimiotactiques de ce même facteur bactérien), les principales molécules lipidiques à pouvoir chimiotactique sont mises en jeu au cours de la réaction inflammatoire tissulaire et appartiennent au groupe des prostaglandines et apparentés (cf annexe page 35).

La prostaglandine PG F2 alpha aurait un effet sur la chimiotaxie variable selon la dose et le thromboxane TX B2 serait chimiotactique pour les polynucléaires. Néanmoins, l'intérêt porte actuellement surtout sur un métabolite de l'acide arachidonique qui joue un rôle central dans la biosynthèse de médiateurs non peptidiques de l'inflammation. En effet, l'acide arachidonique est d'une part transformé par une cyclo-oxygénase en endoperoxydes qui sont les précurseurs des prostaglandines primaires, du thromboxane TX A2 (donnant le TX B2) et de la prostacycline PG I2 qui jouent entre autre un rôle majeur dans l'agrégation plaquettaire; d'autre part, l'acide arachidonique peut être transformé par une lipoxygénase en un acide gras hydroxylé doué d'activité chimiotactique, l'HETE. Or, le poumon et les plaquettes sont des producteurs particulièrement actifs des prostaglandines.

Ainsi, l'activité chimiotactique des plaquettes avait été décrite bien avant la démonstration du rôle de l'acide arachidonique dans l'agrégation plaquettaire et des expériences d'incubation d'acide arachidonique avec des plaquettes humaines ont permis de rattacher ensuite l'activité chimiotactique de la solution à un hydroxyacide "12L.OH.5,8,10,14 eicosatetraenoic acid" ou HETE; l'acide arachidonique serait transformé d'abord par la lipoxygénase en hydroperoxyde aussitôt réduit en hydroxyacide HETE par le glutathion. Le groupe hydroxyl en position 9 est essentiel à son activité chimiotactique. Le spectre d'action cellulaire de l'HETE semble assez large : il serait capable d'attirer les polynucléaires neutrophiles et éosinophiles et les macrophages alvéolaires. Au delà de son action chimiotactique in vitro, l'HETE apparaît de plus en plus comme un médiateur biologiquement important de la chimiotaxie; il est en effet un métabolite potentiel dans la plupart des tissus du fait de la présence d'acide arachidonique dans les membranes plasmiques (notamment des leucocytes). Dans les tissus, l'acide arachidonique libre nécessaire à la synthèse d'HETE pourrait provenir d'esters membranaires par le biais de l'action de phospholipases; un tel mode d'action pourrait suivre l'agression tissulaire et l'activation de phospholipases endogènes. Ainsi, il semble que la transformation d'acide arachidonique en HETE apporte un nouveau mécanisme de production de médiateurs chimiotactiques : la rupture de l'intégrité de la membrane cellulaire (traumatisme, agent microbien, mort cellulaire non spécifique) expose les phospholipides riches en arachidonate à l'action de phospholipases qui expulsent de l'acide arachidonique libre; la lipoxygénase métabolise alors l'acide arachidonique en HETE qui, à son tour, favorise le recrutement de phagocytes. L'agrégation plaquettaire représente une autre source capitale d'HETE.

Une application de ce schéma de formation de lipides chimiotactiques est la rationalisation partielle du phénomène appelé necrotaxie. Ainsi, des érythrocytes lésés par laser sont reconnus et phagocytés par des leucocytes de voisinage. Il est probable que des signaux chimiotactiques émis par les érythrocytes altérés guident les leucocytes vers leurs cibles.

Ces expériences ont été faites en l'absence de sérum et de complément ce qui implique que les signaux chimiotactiques sont produits à partir de matériaux de structure des érythrocytes. Ces signaux peuvent bien provenir à la fois d'acide arachidonique oxydé libéré par la membrane érythrocytaire et de protéines dénaturées certainement libérées par les érythrocytes rompus. L'analyse chimique d'érythrocytes nécrotiques ne permet pas d'affirmer la présence de lipides ou de protéines chimiotactiques mais la présence de ces médiateurs semble hautement probable.

L'identification de lipides chimiotactiques soulève beaucoup de nouvelles questions sur l'interaction des leucocytes avec leurs attractants. La nature des supposés sites de liaison chimiotactique sur les membranes leucocytaires est d'une importance particulière : on ne sait pas si les facteurs chimiotactiques lipidiques et peptidiques sont ou non reconnus par les mêmes sites de liaison. La mise en évidence de sites séparés pour les lipides et les peptides peut avoir d'importantes implications quant au contrôle de la chimiotaxie in vivo.

Le métabolisme de l'HETE par les phagocytes est un autre processus pratiquement inexploré. Il semble improbable qu'un acide gras tel que l'HETE soit un substrat pour les estérases qui interviennent à l'égard des peptides N. formyl. Le métabolisme de l'HETE serait plus vraisemblablement analogue à celui des prostaglandines c'est-à-dire conversion du groupe hydroxyl en une fonction ceto par une deshydrogénase, isomérisation et réduction, enfin oxydation.

Une meilleure compréhension des interactions des peptides et des lipides dans le contrôle de la chimiotaxie permettrait de mieux exploiter les situations pathologiques sous tendues par un dysfonctionnement du système de défense phagocytaire.

c - facteurs chimiotactiques libérés par les cellules phagocytaires elles-mêmes. (37)

Des expériences chez l'animal montrent que, après phagocytose de *Staphylococcus Aureus* tués par la chaleur, les macrophages alvéolaires libèrent un facteur chimiotactique de petit poids moléculaire (< 5000 daltons) qui attire préférentiellement les

neutrophiles (et moins les monocytes eux-mêmes). Ce "neutrophil chemotactic factor" ou NCF peut être libéré par les macrophages *in vitro* et *in vivo*, non seulement au cours de la phagocytose mais aussi sous l'influence d'autres stimuli non spécifiques comme la simple adhérence à une surface de verre; la capacité de synthèse protéique des macrophages semble nécessaire à la production optimale de ce facteur. L'activité chimiotactique du NCF peut être détectée à la fois *in vitro* (par une méthode de filtre micropore) et *in vivo* (par une augmentation du nombre absolu des neutrophiles dans le liquide de lavage bronchoalvéolaire et sur des prélèvements tissulaires après administration intratrachéale du facteur obtenu *in vitro*). Ainsi, les macrophages alvéolaires sont capables d'initier les réponses inflammatoires pulmonaires en sécrétant un puissant médiateur de la locomotion des neutrophiles.

Par ailleurs, il a été montré que des granulocytes exposés à des gamma globulines agrégées en l'absence de sérum libèrent une molécule thermostable non dialysable qui est chimiotactique pour les granulocytes eux-mêmes (ce processus étant indépendant de l'action des granulocytes sur les facteurs chimiotactiques dérivés du complément - cf régulation de la chimiotaxie).

En somme, il apparaît que la migration des neutrophiles peut être activée par des substances produites par les cellules phagocytaires elles-mêmes.

4° - LYMPHOKINES CHIMIOTACTIQUES (1 - 53)

Les lymphocytes, en réponse à une stimulation appropriée synthétisent et libèrent des facteurs solubles biologiquement actifs appelés lymphokines. Une partie de ces médiateurs est destinée aux polynucléaires et aux macrophages sur lesquels ils exercent, pour certains, une activité chimiotactique. La lymphokine chimiotactique la mieux définie est le LDCF ("lymphocyte derived chemotactic factor") dont l'action est démontrée particulièrement au niveau des macrophages (d'où l'appellation également de "macrophage chemotactic factor" ou MCF). Ainsi, lorsque des leucocytes humains sont stimulés par un mitogène comme la phytohéماغglutinine ou un antigène tel qu'un dérivé protéique purifié de la tuberculine, ils

élaborent un facteur soluble déterminant l'attraction des mononucléaires homologues et il est prouvé que ce facteur attractant est une protéine de petit poids moléculaire (12500 daltons) non dérivée du complément mais produite directement par les lymphocytes T et B également. Il est possible qu'il existe par ailleurs des lymphokines chimiotactiques pour les polynucléaires, similaires au LDCF.

Des anomalies de la synthèse des lymphokines chimiotactiques ont été impliquées dans la physiopathologie de diverses affections humaines (syndrome de WISKOTT-ALDRICH, candidose cutanéomuqueuse chronique...). En outre, la migration leucocytaire est influencée par d'autres lymphokines (MIF et LIF) qui agissent non plus comme facteurs chimiotactiques mais comme facteurs inhibant la migration des macrophages et des polynucléaires (cf régulation de la chimiotaxie).

PS : il est important de rappeler que le recrutement des lymphocytes, variable selon le type de réaction inflammatoire, semble dépendre également, au moins en partie, d'un phénomène de chimiotaxie.

5° - CHIMIOTAXIE LIEE A L'ANTIGENE LUI MEME (38)

Il s'agit d'une forme de chimiotaxie mise en jeu directement par les réactions antigène-anticorps survenant à la surface de la cellule qui répond de façon chimiotactique. Il ne fait pas de doute qu'une telle chimiotaxie des polynucléaires et macrophages induite par un antigène et médiée par des anticorps cytophiles est un phénomène réel. Autrement dit, l'antigène devient chimiotactique vis-à-vis de la cellule qui transporte l'anticorps correspondant.

Ce type de stimulus antigène-dépendant est tout à fait différent du mécanisme plus habituel où les interactions antigène-anticorps-complément aboutissent à la production de facteurs chimiotactiques; dans ce dernier cas, la réaction immune a lieu indépendamment et à distance de la cellule capable de réponse chimiotactique qui n'est pas du tout impliquée dans la réaction immune elle-même (l'anticorps dirigé contre l'antigène

déclenche en se fixant à celui ci l'activation du système complémentaire dont certaines fractions deviennent chimiotactiques). Au contraire de la chimiotaxie des leucocytes par des facteurs solubles, la chimiotaxie antigène-dépendante présente une spécificité immunologique intime qui réside dans la spécificité de la réaction immune à la surface cellulaire. Rapportée aux conditions in vivo, cette spécificité représente un potentiel considérable, spécialement en ce qui concerne la rencontre initiale entre les leucocytes et le matériel antigénique.

IV - PHYSIOLOGIE CELLULAIRE DE LA CHIMIOTAXIE (25 - 59)

Lors de la migration dirigée, les neutrophiles prennent une morphologie orientée caractérisée par la polarisation de la cellule avec le noyau vers l'arrière et des pseudopodes à l'avant, formés par le lamellipodium (voile hyaloplasmique) et contenant un réseau lâche de microfilaments; entre le noyau et les pseudopodes se trouvent la majeure partie du cytoplasme et des granules, ainsi que le centriole avec un arrangement radial de microtubules. Lors de l'inversion d'un gradient de facteur chimiotactique, une série d'évènements complexes mais organisés survient avec la réorientation de la cellule. D'abord, le centriole et l'arrangement de microtubules migrent en direction de l'un des anciens pseudopodes et le noyau va se placer loin de la nouvelle source de facteur chimiotactique; ensuite, un réseau lâche de microfilaments apparaît à la nouvelle extrémité antérieure de la cellule et le centriole avec les microtubules se replacent entre le noyau et cette nouvelle partie antérieure de la cellule; la cellule amorce alors son déplacement en émettant son lamellipodium dans la direction de la nouvelle source de facteur chimiotactique. Le fait que l'orientation des structures internes au cours de la migration dirigée survienne avant la mise en mouvement proprement dit suggère que le processus d'orientation cellulaire est crucial dans la migration dirigée. Il apparaît ainsi que le déroulement de la chimiotaxie repose sur la mise en jeu de deux systèmes contractiles distincts : le système des microtubules responsable de l'orientation cellulaire et le système des microfilaments responsable du déplacement proprement dit. Le fonctionnement de ces éléments contractiles nécessite des cations divalents (Ca^{++} , Mg^{++}) et de l'énergie métabolique (ATP) fournie par la glycolyse. L'étude des flux d'ions lors de l'activation leucocytaire par les facteurs chimiotactiques montre que l'initiation de la locomotion est liée à une augmentation du calcium ionisé intracytoplasmique couplée à des mouvements de sodium et potassium; ces mouvements de Na^+ et K^+ à travers la membrane cellulaire paraissent assurés par une pompe fonctionnant grâce à l'énergie métabolique

provenant de l'hydrolyse de l'ATP par une ATPase Na+K+ dépendante de membrane qui serait activée directement ou indirectement par les facteurs chimiotactiques (3). En outre, l'orientation de la cellule dépend étroitement du taux intracellulaire de nucléotides cycliques.

a - physiologie de l'orientation cellulaire

Le traitement des cellules par la colchicine altère nettement l'orientation de leurs structures : les noyaux se répartissent n'importe comment dans les cellules, sans aucun rapport avec les centrioles, et les pseudopodes ne se trouvent plus situés face à la direction qu'ils devraient suivre normalement. Or, la colchicine inhibe l'assemblage microtubulaire et, alors qu'elle entrave fortement la chimiotaxie, elle ne diminue que faiblement la chimiocinésie (dans une concentration uniforme de chimioattractant) et n'a aucun effet sur la migration au hasard (dans un système tampon).

Les nucléotides cycliques AMPc (3'5' adénosine monophosphate cyclique) et GMPc (3'5' guanosine monophosphate cyclique) exercent au niveau de la réponse chimiotactique, comme sur divers processus biologiques, des effets opposés (effet Yin-Yang) : le GMPc stimule la chimiotaxie en favorisant la polymérisation des microtubules alors que l'AMPc a l'effet inverse. Les facteurs chimiotactiques dérivés du complément, de même que les peptides formyl Méthionyl provenant du facteur bactérien d'E. Coli augmentent le taux de GMPc dans les polynucléaires et n'ont pas d'effet sur l'AMPc; les nucléotides cycliques sont formés sous l'action d'enzymes membranaires et il est probable que les facteurs chimiotactiques agissent à ce niveau.

b - physiologie du déplacement cellulaire

Le traitement des cellules par la cytochalasine B inhibe la locomotion cellulaire mais n'inhibe pas la capacité des neutrophiles à orienter leurs structures internes dans un gradient de facteur chimiotactique. Or, la cytochalasine B fait disparaître les faisceaux de microfilaments dans les pseudopodes

ce qui suggère fortement que le système des microfilaments est essentiel à la locomotion cellulaire. Les leucocytes se déplaceraient donc grâce à la contraction et au relâchement des protéines contractiles constituant les microfilaments présents au niveau des pseudopodes. La principale protéine contractile des neutrophiles est l'actine qui diffère peu de l'actine du muscle squelettique et qui se trouve dans les microfilaments sous une forme polymérisée grâce à une protéine de liaison de l'actine (ABP) présente à la périphérie des neutrophiles (ce qui suggère qu'elle est activée par le contact d'une particule avec la membrane plasmique). En présence de calcium, la myosine présente également dans les phagocytes s'assemble en agrégats filamenteux et se lie à la forme polymérisée de l'actine (F-actine); cette myosine possède une activité Mg^{++} ATPasique et l'énergie libérée par l'hydrolyse de l'ATP se transforme en force contractile par glissement parallèle des filaments de myosine et d'actine.

V - REGULATION DE LA CHIMIOTAXIE (27)

On peut considérer que cette régulation s'exerce à deux niveaux : d'une part au niveau des facteurs chimiotactiques et d'autre part au niveau des cellules phagocytaires qui sont soumises à la chimiotaxie.

a - REGULATION PORTANT SUR LES FACTEURS CHIMIOTACTIQUES (69)

Il apparaît de plus en plus évident que les granules leucocytaires ne sont pas uniquement dévolus à des fonctions intracellulaires de bactéricidie et de digestion. En effet, il est prouvé que le contenu des granules azurophiles et spécifiques peut être libéré hors de la cellule dans diverses circonstances et que les produits ainsi libérés interagissent en particulier avec le système complémentaire pour assurer tant la génération que l'inactivation de facteurs chimiotactiques du complément. Ainsi, les neutrophiles arrivant au site d'une agression exercent d'importants effets de modulation sur l'évolution de la réaction inflammatoire et ce quel que soit le stimulus initial de l'inflammation.

+ génération par les neutrophiles des facteurs chimiotactiques dérivés du complément

Une implication des neutrophiles dans la génération de facteurs chimiotactiques a d'abord été suggérée par le fait que des lysats de neutrophiles sont capables de provoquer ou d'amplifier les lésions inflammatoires exsudatives chez des animaux d'expérience. Puis, il a été montré chez l'animal et chez l'homme que la fraction lysosomale des neutrophiles peut induire une activité chimiotactique à partir du sérum et que ce phénomène pouvait s'expliquer par la production de facteurs chimiotactiques dérivés du complément. Ainsi, lors de la phagocytose par les neutrophiles de particules de latex (qui sont rapidement ingérées en l'absence de sérum ou de protéines plasmatiques et dénuées d'activité chimiotactique directe ou indirecte), le milieu d'incubation post-phagocytaire a le pouvoir d'induire une activité chimiotactique en présence de sérum mais pas en son absence; de plus, cette capacité du

milieu à produire une activité chimiotactique à partir du sérum augmente au cours de la phagocytose tandis que les lysats de neutrophiles prélevés à différents moments de la phagocytose perdent progressivement leur pouvoir d'activation (vidange). Ces lysats de granules de neutrophiles sont capables de cliver directement le C5 pour produire une molécule chimiotactique rapportée au C5a et la génération de l'activité chimiotactique du sérum pourrait résulter simplement d'une action directe du contenu des granules sur le C5. Néanmoins, l'activité chimiotactique produite par le milieu d'incubation après phagocytose de particules de latex par des neutrophiles est moindre en présence du seul C5 purifié qu'en présence de sérum complet, ce qui suggère que la production de C5a proviendrait surtout de l'activation globale du complément. En effet, chez un sujet porteur d'un déficit congénital en C3 (avec quantité normale de C5 dans le sérum), le milieu post-phagocytaire ne produit qu'une minime activité chimiotactique par rapport au sérum normal et l'addition de C3 à ce sérum déficient restitue une activité chimiotactique normale; cette activité chimiotactique ne dépend pas du C3 et d'ailleurs, l'addition de C3 à un sérum normal n'augmente pas sa capacité à être activé par le milieu post-phagocytaire. En somme, il apparaît que l'activité chimiotactique du sérum produite par le milieu post-phagocytaire est liée au C5a provenant de l'activation du complément par l'intermédiaire de C3 surtout, et d'un clivage direct du C5 à un moindre degré. Il semble que cette activation globale du complément par le contenu des granules des neutrophiles procède au moins en partie de la voie alterne.

+ inactivation par les neutrophiles des facteurs chimiotactiques dérivés du complément (6)

Curieusement, la présence de l'activateur du sérum produit par les neutrophiles, détectée après 5 minutes seulement de phagocytose dans le milieu d'incubation et maximale vers 20 à 30 minutes, diminue ensuite vers 60 minutes ce qui ne peut être expliqué par son instabilité en solution car un échantillon du milieu prélevé à 20 minutes ne perd pas notablement

son pouvoir lorsqu'il est conservé en l'absence de cellules; ceci suggère un mécanisme inactivateur de la part des cellules, d'autant que, lorsque l'activité et le nombre des cellules phagocytaires augmentent, la capacité du milieu post-phagocytaire à fournir une activité chimiotactique à partir du sérum augmente également mais jusqu'à une certaine limite au delà de laquelle cette capacité décroît (plus de 50 particules à phagocyter par cellule et plus de 10^7 cellules par ml). Ces notions suggèrent donc que, dans les conditions d'une phagocytose relativement intense, les neutrophiles libèrent un facteur inactivateur du C5a ("chemotactic factor inactivator" ou CFI); en effet, l'incubation d'un milieu post-phagocytaire à forte densité cellulaire avec d'une part du sérum préalablement activé par l'endotoxine de E. Coli et d'autre part du C5a partiellement purifié montre que l'activité chimiotactique des deux préparations est inhibée de façon significative par le milieu post-phagocytaire. Ces effets inhibiteurs du milieu post-phagocytaire sur l'activité chimiotactique du C5a augmentent avec le temps d'incubation et sont à peu près supprimés par le chauffage, ce qui suggère l'effet direct d'un facteur thermolabile sur le stimulus chimiotactique. Diverses substances libérées des granules des neutrophiles au cours de la phagocytose ont été suspectées comme responsables de la dégradation du C5a, notamment des protéases neutres et surtout des protéines cationiques à action chymotrypsine-like. Il a été décrit naguère un facteur immobilisant les neutrophiles (NIF), libéré par les neutrophiles en phagocytose et les rendant insensibles aux stimuli chimiotactiques, mais l'identité entre le CFI et le NIF est mal précisée.

+ caractérisation et mise en jeu de l'activateur du complément et de l'inactivateur du C5a produits par les neutrophiles

Les différences de caractéristiques physicochimiques et de cinétique d'apparition de l'activateur et de l'inactivateur suggèrent que ces produits sont contenus dans des populations de granules différentes. En effet, il est connu que les granules spécifiques et azurophiles diffèrent par leur capacité et leur

régime de dégranulation; ainsi, le lysozyme contenu en grande partie dans les granules spécifiques est libéré rapidement par les neutrophiles, comme l'activateur du sérum, tandis que la beta glucuronidase contenue seulement dans les granules azurophiles est libérée plus lentement, comme l'inactivateur du C5a. Les granules spécifiques et azurophiles des neutrophiles humains peuvent être séparés par ultracentrifugation en trois bandes : les deux bandes de plus forte densité A et B contiennent des granules relativement gros, ronds, peroxydase positifs qui constituent les granules primaires ou azurophiles. La bande la plus légère C contient de petits granules polymorphes peroxydase négatifs qui constituent les granules secondaires ou spécifiques. Les granules azurophiles contiennent des hydrolases acides (comme la beta glucuronidase) des protéases neutres, des protéines cationiques, la myeloperoxydase et un peu de lysozyme; les granules spécifiques contiennent la majeure partie du lysozyme, de la lactoferrine et la collagénase. Il apparaît que l'activateur du sérum est stocké dans les granules spécifiques C tandis que l'inactivateur du C5a se trouve dans les granules azurophiles B. Leur nature demeure imprécise mais la chromatographie des lysats de granules montre d'une part que l'activateur du sérum présent dans les granules spécifiques est une molécule de gros PM (>150000 daltons), d'autre part qu'il y a en fait dans les granules azurophiles au moins 2 inactivateurs du C5a de PM respectif 6500 et 30000 daltons, le dernier correspondant à la taille des protéines cationiques des neutrophiles...

La localisation de ces produits apparemment antagonistes dans des populations différentes de granules semble importante pour la façon dont ces produits cellulaires interviennent dans la modulation de la réponse inflammatoire. Il est prouvé que la margination et l'extravasation des neutrophiles constituent par elles mêmes un stimulus pour la sécrétion d'un certain nombre de granules spécifiques par les neutrophiles in vivo, comme le montre la présence précoce des enzymes de ces granules dans des liquides d'exsudats stériles. Ceci indique que la libération extracellulaire de l'activateur du sérum peut survenir au cours de l'inflammation aigue quel que soit le stimulus initial de l'inflammation et que les

neutrophiles parvenus au site de la réaction inflammatoire sont capables d'amplifier et de centraliser la réponse par le biais de l'activation du complément. A ce point de vue, il est intéressant de noter que l'extravasation des leucocytes (et par suite leur migration mesurée par la technique de la fenêtre cutanée) est nettement retardée chez un sujet atteint de déficit en C3 dont le sérum n'assure ni activation du complément ni par conséquent production de C5a. Ceci confirme la notion qu'un système complémentaire intact est nécessaire à une phase précoce d'amplification de l'extravasation leucocytaire, même en cas d'agression non immune comme avec l'abrasion cutanée superficielle utilisée comme stimulus inflammatoire dans la méthode de fenêtre cutanée. Inversement, la libération extracellulaire du contenu des granules azurophiles par les neutrophiles semble devenir quantitativement plus importante au site de l'inflammation lorsque la réponse inflammatoire se développe et que la densité de cellules augmente hors des vaisseaux. De plus, les différences entre le pH optimal pour l'activateur du sérum et pour les inactivateurs du C5a suggèrent que, lorsque le pH diminue au cours de l'évolution d'une lésion inflammatoire, l'inactivation du C5a serait privilégiée par rapport à l'activation du complément, limitant ainsi l'effet du C5a en tant que médiateur de l'inflammation.

b - REGULATION PORTANT SUR LES CELLULES PHAGOCYTAIRES

La locomotion des cellules phagocytaires peut être modifiée par diverses substances agissant directement au niveau cellulaire, tantôt par la modulation du taux des nucléotides cycliques intracellulaires, tantôt par d'autres mécanismes plus ou moins bien définis. Parmi ces substances, deux lymphokines jouent probablement un rôle important dans le contrôle de la migration des polynucléaires et macrophages (LIF et MIF), étant bien entendu que la mise en jeu des lymphocytes varie selon le type de réaction inflammatoire.

+ modulation du taux des nucléotides cycliques (35)

A côté des facteurs chimioattractants, divers facteurs exercent une action régulatrice sur la chimiotaxie par le biais des nucléotides cycliques : les uns facilitent la chimiotaxie en augmentant le taux de GMPc, les autres inhibent la chimiotaxie en augmentant le taux d'AMPc; en effet, le GMPc favorise la chimiotaxie en promouvant l'assemblage des microtubules alors que l'AMPc a l'effet inverse.

- Les agents qui favorisent l'accumulation du GMPc sont notamment la PG F2 alpha, l'acide ascorbique, la phenylephrine, l'imidazole.. La PG F2 alpha a en fait une réponse biphasique c'est-à-dire qu'elle augmente la chimiotaxie jusqu'à une concentration élevée à tel point qu'elle la diminue alors; il est possible que la PG F2 alpha à haute dose augmente l'AMPc en plus du GMPc et il semble que les effets de l'AMPc soient dominants sur ceux du GMPc en cas d'augmentation simultanée. L'acide ascorbique augmente la chimiotaxie des polynucléaires et des monocytes mais l'augmentation du GMPc par l'ascorbate n'est prouvée actuellement que dans les mononucléaires; de plus, il stimule l'activité du shunt des hexoses monophosphates et il existe une corrélation entre l'activité de ce shunt (appréciée par la réduction du nitrobleu de tétrazolium ou NBT) et la sensibilité chimiotactique : il apparaît que les 2 fonctions sont augmentées dans des conditions similaires mais ne dépendent pas l'une de l'autre. Ceci est illustré par le fait que les patients atteints de granulomatose chronique ont une activité chimiotactique normale voire augmentée en l'absence de shunt des hexoses monophosphates fonctionnel. Il semble que les modulateurs stimulant la chimiotaxie interviennent essentiellement lorsque la concentration de chimioattractant est très faible à la surface cellulaire; inversement, une augmentation d'AMPc provient d'une stimulation par des modulateurs inhibiteurs.

- Les agents qui provoquent l'accumulation d'AMPc dans les leucocytes sont notamment l'isoproterenol, l'histamine, la PG E1, l'epinephrine. L'isoproterenol augmente en fait également le taux de GMPc mais de façon moins importante et le fait qu'il diminue la chimiotaxie tout en élevant à la fois

l'AMPc et le GMPc confirme bien la notion selon laquelle les effets du GMPc peuvent être masqués par une augmentation simultanée de l'AMPc. L'histamine libérée par les mastocytes est capable d'inhiber la réponse chimiotactique des cellules phagocytaires en élevant, à certaines concentrations, le taux d'AMPc dans ces cellules (sur lesquelles elle se fixe au niveau d'un récepteur de type H₂).

Une anomalie de la fonction chimiotactique des granulocytes semble pouvoir être en rapport avec une altération absolue ou relative des nucléotides cycliques intracellulaires. Ainsi :

- . les sujets atteints de diabète sucré peuvent avoir une dépression de la fonction chimiotactique résultant d'un déséquilibre des taux d'AMPc et de GMPc. L'insuline est capable de corriger la mauvaise réponse des polynucléaires de diabétique, même en l'absence de glucose, ce qui évoque un effet pharmacologique direct de l'insuline sur les polynucléaires.

- . le déficit de la chimiotaxie des polynucléaires chez les sujets atteints d'affection allergique avec ou sans hypergammaglobulinémie E reste obscur. Néanmoins, l'histamine provoque l'accumulation d'AMPc dans les polynucléaires et inhibe ainsi la chimiotaxie; de plus elle altère la libération enzymatique lysosomale. Ainsi, c'est bien l'hypothèse d'une libération accrue d'histamine qui rendrait le mieux compte de l'inhibition de la leucotaxie génératrice des accidents infectieux microbiens chez les sujets atopiques avec très forte hypergammaglobulinémie E (syndrome de JOB ou de BUCKLEY - (19)).

- . le rôle des nucléotides cycliques a également été mis en cause dans les anomalies des leucocytes associées au syndrome de CHEDIAK HIGASHI qui sont corrigées par l'incubation avec du GMPc et des agonistes cholinergiques; un taux élevé d'AMPc a parfois pu être mis en évidence et le traitement par l'acide ascorbique a dans ce cas entraîné une augmentation considérable de la chimiotaxie et de la dégranulation des neutrophiles, accompagnée d'une baisse du taux d'AMPc dans les polynucléaires..

Ces cas suggèrent l'importance des altérations du métabolisme des nucléotides cycliques dans les états inflammatoires défectueux et la possibilité de corriger cette anomalie par des moyens pharmacologiques.

Par ailleurs, une inhibition cellulaire de la chimiotaxie ne reposant pas sur la modulation du taux des nucléotides cycliques a été décrite tant dans des conditions normales que pathologiques (affections hépatiques, neoplasmes, myelomes à Ig A (61)). Dans le sérum normal, les faits les plus précis concernent 2 lymphokines capables d'inhiber la migration des phagocytes :

+ lymphokines inhibant la migration des phagocytes (53)

Deux substances produites par les lymphocytes activés sont capables d'interrompre la migration des phagocytes sans inhiber pour autant leur pouvoir bactéricide qui semble au contraire augmenté de façon concomitante.

- le "Macrophage Migration Inhibitory Factor" (MIF)

Diverses activités à l'égard des macrophages sont attribuées à une lymphokine, le MIF, mais il n'est pas encore possible d'affirmer que toutes les manifestations invoquées sont causées par une seule molécule. Les 2 activités principales du MIF sont l'inhibition de la migration des macrophages (qui est typiquement un événement rapide) et l'augmentation du pouvoir bactéricide (dont le développement exige de 48 à 72 heures de contact des macrophages avec le MIF). Ces effets pourraient peut être s'expliquer par un même mécanisme à savoir la stimulation de la production par les macrophages de métabolites d'oxygène toxiques (superoxyde, oxygène singlet, eau oxygénée) doués de pouvoir bactéricide et responsables par ailleurs, lorsqu'ils sont produits en abondance, de lésions réversibles de certains composants cellulaires mal précisés aboutissant à une inhibition transitoire de la motilité cellulaire (la reprise de la mobilité étant liée au développement d'un système tampon antioxydant). En somme, cet effet inhibiteur de la migration des macrophages induit par le MIF apparaît comme contingent d'un effet activateur du pouvoir bactéricide et il pourrait expliquer l'abondance des macrophages dans l'infiltrat inflammatoire des réactions d'hypersensibilité retardée. (où les lymphocytes se trouvent en grand nombre).

- le "Leukocyte Migration Inhibitory Factor" (LIF)

Cette lymphokine inhibe la migration des leucocytes polynucléaires neutrophiles, comme le MIF inhibe la migration des macrophages, par une action cellulaire directe. Elle diffère cependant totalement du MIF par son mode d'action. En effet, le LIF se comporte comme une estérase à la spécificité sérine et il est la seule lymphokine dont l'activité s'explique par ses propriétés enzymatiques. La structure cible la plus probable pour l'estérase est localisée dans la membrane des leucocytes et on a suggéré qu'un produit de cette réaction protéolytique soit responsable de l'inhibition de la motilité cellulaire; en outre, il semble qu'à côté de cette action cellulaire directe, le LIF amplifie la production par les neutrophiles eux mêmes d'inhibiteurs de la chimiotaxie de petit poids moléculaire ressemblant au NIF (28) - cf page 80.

Il n'y a pas de preuve d'un effet activateur du LIF sur les leucocytes cibles, similaire à celui exprimé par l'augmentation du pouvoir bactéricide des macrophages traités au MIF; quoi qu'il en soit, il a été montré que des leucocytes traités dans un milieu de culture contenant des lymphokines produisent des quantités élevées de superoxyde...

PS : Enfin, il semble que certaines substances soient capables de se comporter comme des antagonistes des facteurs chimiotactiques en agissant par compétition au niveau du récepteur cellulaire correspondant à un facteur chimiotactique donné, ce qui représenterait une nouvelle approche de la suppression in vivo des réponses biologiques médiées par des facteurs leucotactiques. (50).

Les cellules soumises à un facteur attractant migrent mieux dans un milieu contenant de l'albumine que dans un milieu sans albumine. L'importance de l'albumine dans la locomotion leucocytaire peut être considérée sous 3 aspects : l'effet chimiocinétique de l'albumine, l'effet de l'albumine sur la réponse des leucocytes aux facteurs chimiotactiques et enfin l'effet de l'albumine sur la modulation des réponses chimiotactiques par des médicaments. Les études réalisées in vitro avec la technique du filtre micropore et quantifiées selon la méthode du "leading front" montrent les points suivants :

1° - La présence d'albumine dans le milieu conduit les cellules à se déplacer plus rapidement au hasard. Cet effet chimio-cinétique ne peut pas être obtenu avec d'autres protéines que l'albumine. En outre, la dénaturation de l'albumine sérique la rend chimiotactique pour les leucocytes et non plus seulement chimio-cinétique. Cet effet chimiotactique de la dénaturation de l'albumine (comme celle d'autres protéines aussi) est peut être lié à la révélation de groupes hydrophobes qui pénètrent la double couche phospholipidique de la membrane cellulaire. Du fait que les protéines dénaturées peuvent se révéler chimiotactiques, il est donc très important de n'utiliser que des préparations d'albumine native de bonne qualité.

2° - L'étude des effets de l'albumine sur les réponses des leucocytes à des facteurs chimiotactiques montre que les leucocytes en présence d'albumine répondent bien aux facteurs chimiotactiques de faible poids moléculaire (comme les peptides formylméthionyl ou certains acides gras..) mais n'y répondent plus dans un milieu privé d'albumine alors qu'ils continuent à répondre à des facteurs chimiotactiques protéiques de plus haut poids moléculaire (comme la caséine et l'albumine dénaturée); après addition d'albumine au milieu, les cellules répondent normalement aussi bien aux facteurs attractants de faible poids moléculaire que de haut poids moléculaire (PM). L'albumine ne peut être remplacée dans ces expériences par d'autres protéines. Ceci suggère donc que les facteurs chimiotactiques de faible PM se trouvant dans un milieu comportant de l'albumine pourraient être fixés par cette albumine et

présentés à la surface cellulaire sous forme d'un complexe albumine-facteur chimiotactique. D'ailleurs, après incubation de facteurs attractants de petit PM avec de l'albumine et séparation d'une part de la fraction protéique de haut PM (correspondant à l'albumine liée aux facteurs attractants?), d'autre part de la fraction de faible PM (correspondant aux facteurs attractants libres ?), l'activité chimioattractante apparaît prédominante dans la fraction de haut PM. De plus, le blocage des sites de liaison de l'albumine abolit sa capacité de soutien de la migration envers des facteurs chimiotactiques de petit PM. Il semble donc que l'albumine favorise l'action des facteurs chimiotactiques de petit PM (peptides, acides gras...) non pas par une simple "préparation" des leucocytes mais par une véritable présentation des facteurs attractants de petit PM aux cellules phagocytaires en se liant avec ceux ci.

3° - L'albumine intervient enfin dans les interactions de certaines drogues sur la locomotion leucocytaire. En effet, des produits comme les anesthésiques par exemple peuvent avoir une action inhibitrice sur la locomotion leucocytaire, beaucoup plus marquée en l'absence d'albumine qu'en sa présence, cette action protectrice étant en rapport avec la liaison des substances néfastes pour la chimiotaxie avec l'albumine.

En somme, ces observations montrent que l'albumine influence de plusieurs façons la locomotion leucocytaire : elle est chimiocinétique par elle-même, elle agit comme transporteur des facteurs chimiotactiques de petit PM pour les présenter aux membranes cellulaires, elle protège le déroulement de la chimiotaxie en se liant aux substances néfastes aux cellules phagocytaires.

A côté des troubles quantitatifs des granulocytes (neutropénies et agranulocytoses), diverses anomalies qualitatives des cellules phagocytaires ont été décrites depuis une vingtaine d'années, permettant de mieux comprendre les mécanismes de la phagocytose et son rôle dans la défense de l'organisme contre les infections. Ces anomalies, congénitales ou acquises, peuvent en effet concerner l'une ou plusieurs des fonctions des cellules phagocytaires (chimiotaxie, ingestion proprement dite, bactéricidie) et ont en commun de se manifester cliniquement par des infections bactériennes récidivantes frappant électivement la peau et les voies respiratoires. Il est certain que les situations cliniques les mieux individualisées sont observées essentiellement chez des sujets jeunes où elles connaissent une évolution habituellement sévère en rapport avec une anomalie congénitale profonde; néanmoins, il est probable que l'extension des recherches permettra de détecter de plus en plus souvent soit des anomalies congénitales plus discrètes à extériorisation retardée ou atténuée, soit des anomalies acquises parfois transitoires pouvant expliquer certains états infectieux récidivants. Ces anomalies qualitatives correspondent tantôt à un déficit enzymatique précis (comme le déficit en NADPH oxydase probablement responsable du défaut de bactéricidie par production insuffisante d'eau oxygénée dans la granulomatose chronique, première affection décrite), tantôt à un désordre fonctionnel plus complexe et plus ou moins bien défini.

Nous n'envisageons ici que les situations cliniques en rapport avec un trouble prédominant de la chimiotaxie. Ces anomalies de la chimiotaxie peuvent être réparties en 3 groupes:

- + anomalies cellulaires intrinsèques (les plus fréquentes)
- + défaut de production des facteurs chimiotactiques, en particulier des dérivés chimiotactiques du complément
- + présence d'inhibiteurs circulants de la chimiotaxie, agissant soit au niveau cellulaire soit au niveau des facteurs chimiotactiques.

1°) ANOMALIES CELLULAIRES INTRINSEQUES

- Le syndrome de CHEDIAK-HIGASHI est une affection familiale à transmission autosomique récessive marquée par des infections bactériennes récidivantes et sévères à tropisme cutané, ORL et pulmonaire en rapport avec un déficit de la chimiotaxie et un retard de la dégranulation des polynucléaires qui sont caractérisés en outre par des granulations intracytoplasmiques géantes; il s'y associe un albinisme oculo-cutané partiel lié à l'existence également de mélanosomes intramélanocytaires de grande taille transmettant mal le pigment aux kératinocytes environnants. Il semble que le trouble initial soit constitué par un déséquilibre des taux intracellulaires de nucléotides cycliques (défaut de GMPc ou plutôt excès d'AMPc) expliquant à la fois les anomalies de la chimiotaxie (par dysfonctionnement des microtubules) et de la granulogénèse (la présence de granulations géantes diminuant de plus la déformabilité des cellules et aggravant encore le défaut de migration..). L'évolution est souvent fatale à court terme mais le traitement par la vitamine C donnerait des résultats intéressants (l'acide ascorbique favorisant l'accumulation du GMPc dans les cellules).

- Le syndrome des leucocytes paresseux ("lazy leukocyte syndrome") a été décrit chez des enfants souffrant d'infections ORL récidivantes avec neutropénie périphérique par défaut de mobilisation des granulocytes médullaires matures et déficit considérable de la mobilité dirigée ou non de ces cellules, alors que la capacité chimiotactique du sérum est normale. Le trouble initial de ce syndrome n'a pas été précisé.

- Des déficits cellulaires de la chimiotaxie associés à des infections récidivantes ont été notés par ailleurs lors de diabète sucré insulino-prive (mais la mobilité au hasard y demeure normale ce qui n'est pas en faveur d'un processus purement métabolique et il est possible que l'insuline intervienne par elle même sur la chimiotaxie par le biais des nucléotides cycliques), lors de polyarthrite rhumatoïde (par ingestion de complexes rhumatoïdes ?), d'affections cutanées (ichtyose congénitale, eczéma..), d'hypophosphatémie (par déficit en ATP), de néphropathies chroniques...

Certaines de ces anomalies sont réversibles et il est intéressant de noter qu'un déficit transitoire de la chimiotaxie peut être parfois observé au cours d'infections bactériennes sévères, au contraire de l'augmentation habituelle de la réponse chimiotactique dans les infections bactériennes courantes; il est possible que ce résultat contradictoire soit lié à la mise en jeu au cours d'infections particulièrement aiguës et sévères de cellules granuleuses jeunes immatures ("polynucléaires toxiques") incapables d'assurer totalement leurs fonctions.

2°) DEFAUT DE PRODUCTION DE FACTEURS CHIMIOTACTIQUES

- Il s'agit essentiellement de déficits du système complémentaire aboutissant à une production insuffisante des dérivés chimiotactiques du complément à savoir le C5a surtout et le complexe C567. (34 - 43). En effet, à côté de la manifestation clinique la mieux caractérisée des déficits héréditaires en complément représentée par l'oedème angioneurotique héréditaire dû à un déficit en inhibiteur de la C1 esterase (C1-INH), une sensibilité accrue aux infections peut être attribuée à un déficit en facteurs du complément dont les rôles sur la réaction inflammatoire et l'activité des cellules phagocytaires ont été décrits dans la première partie. En ce qui concerne les dérivés chimiotactiques, le défaut de production de C5a et C567 peut être lié essentiellement à :

- une carence en C3 soit par déficit en C3 soit par hypercatabolisme de C3. Cette carence en C3 ne permet ni la poursuite de l'activation du complément (aboutissant à la C5 convertase) ni la formation de C3b doué d'importantes fonctions d'immunoadhérence et d'opsonisation et alors, au déficit de la chimiotaxie, s'associe un déficit de l'ingestion.

- une carence en C5 soit par déficit en C5 soit par dysfonctionnement de C5.

Ces déficits en facteurs du complément peuvent être congénitaux ou acquis (en particulier lors de cirrhose hépatique puisque le foie assure la synthèse de la majeure partie des composants du complément).

- Par ailleurs, il a été incriminé des déficits en facteurs chimiotactiques dérivés des systèmes de la coagulation, de la fibrinolyse et des kallikréines (corrigés par l'apport de la protéine manquante) et également des déficits en lymphokines chimiotactiques (mais inversement l'excès de ces lymphokines chimiotactiques peut aboutir à une réduction de la chimiotaxie. cf suite : syndrome de WISKOTT-ALDRICH).

3°) PRESENCE D'INHIBITEURS CIRCULANTS DE LA CHIMIOTAXIE

Les neutrophiles de certains sujets manifestent en sérum autologue un déficit de la chimiotaxie qui disparaît lorsqu'ils sont lavés et mis en présence de sérum normal, traduisant l'existence d'inhibiteurs sériques qui peuvent agir aux deux niveaux déjà envisagés :

- inhibiteurs cellulaires

. Le syndrome de WISKOTT-ALDRICH correspond à un phénomène paradoxal d'inhibition de la chimiotaxie puisqu'il est en réalité caractérisé par une production excessive de lymphokines chimiotactiques destinées préférentiellement aux monocytes (LDCF) et la chimiotaxie défectueuse de ces monocytes pourrait être liée à une "desactivation" de ces cellules constamment exposées à de fortes concentrations de facteurs chimiotactiques.

. Dans les cas assimilés au syndrome de JOB ou de BUCKLEY associant des infections récidivantes, des manifestations allergiques essentiellement cutanées (eczéma, urticaire..) et une hypergammaglobulinémie E sérique, le déficit de la chimiotaxie pourrait s'expliquer par la libération d'histamine déclenchée par la fixation de l'antigène sur les mastocytes et basophiles sur lesquels sont fixées les molécules d'Ig E, l'histamine inhibant la chimiotaxie par augmentation d'AMPC dans les cellules.

. La présence d'inhibiteurs cellulaires de la chimiotaxie a été notée par ailleurs dans diverses affections malignes et notamment dans le myelome à Ig A où le déficit de la chimiotaxie serait dû à la présence d'un composant M de l'immunoglobuline pathologique qui interférerait au niveau des récepteurs cellulaires des facteurs chimiotactiques.

- inactivateurs des facteurs chimiotactiques

Des inactivateurs des facteurs chimiotactiques sont présents normalement dans le sérum humain où ils les détruisent par clivage enzymatique. Un taux excessif de ces inactivateurs a été noté dans diverses affections, notamment la maladie de Hodgkin, la lèpre lépromateuse, la sarcoïdose et la cirrhose hépatique...

TROISIEME PARTIE

OBSERVATIONS PERSONNELLES

Ces observations personnelles visent à rechercher les éventuelles modifications de la migration leucocytaire in vivo chez des sujets présentant des infections bactériennes bronchopulmonaires récidivantes, spontanément puis sous l'effet d'une vaccination antibactérienne. Il s'agit donc d'un travail préliminaire ayant pour objectif de préciser les moyens et l'intérêt de l'étude "systématique" de la chimiotaxie des polynucléaires neutrophiles en pathologie infectieuse ; en cas de résultats positifs, la mise au point secondaire d'un bilan immunologique précis (reposant sur les données théoriques exposées précédemment) devrait permettre de déterminer les mécanismes des anomalies de la chimiotaxie révélées cliniquement et de définir les principes de leur correction spontanée ou thérapeutique.

A - MATERIELS ET METHODES

1) La population étudiée

La population en essai thérapeutique (population E) est caractérisée cliniquement par la répétition d'infections bronchopulmonaires à pyogènes, avec ou sans autres localisations infectieuses associées. Elle comporte 10 sujets répartis en 7 hommes et 3 femmes avec un âge moyen de 50,9 ans (valeurs extrêmes : 31 ans et 74 ans). Sur ces 10 sujets, 6 présentent à la numération formule sanguine pratiquée avant expérimentation un nombre de leucocytes dans les limites de la normale *, 1 sujet présente un nombre de leucocytes à la limite inférieure de la normale et 3 sujets présentent une leucocytose modérée. Par ailleurs, 1 seul sujet présente un tabagisme au moment de l'expérimentation.

* valeurs normales de la numération formule sanguine :
4.000 à 8.000 leucocytes par mm^3 avec :
55 à 70% de neutrophiles - 0 à 3% d'eosinophiles - 0 à 1% de basophiles - 37 à 46% de lymphocytes - 3 à 8% de monocytes.

Observation n° 1 : Monsieur B. Marcel - 36 ans (790742)

- = infections ORL et bronchiques récidivantes sur fond de bronchorrhée chronique évoluant depuis l'âge de 2 ans dans les suites d'une coqueluche. Points particuliers :
- séjour en établissement climatique de 12 à 15 ans avec mise en évidence de bronchectasies bilatérales et apprentissage de cures déclives pratiquées régulièrement depuis.
 - interventions chirurgicales pour mastoïdite à 30 ans et pour sinusite à 31 ans.
 - infections aiguës, surtout hivernales, ORL (otite, sinusite) et bronchiques (avec expectoration purulente) nécessitant des traitements antibiotiques répétés.
 - pas de tabagisme
 - bronchographie actuelle : bronchectasies de type cylindrique des 2 lobes inférieurs et du lobe moyen + adenolectasies du lobe supérieur droit.
 - Ig E sériques (RIST) très élevées à plusieurs reprises :
7.172 microgrammes/litre en Novembre 1979 (N : 214 + 71)
avec tests cutanés allergologiques faiblement positifs pour les allergènes courants.
 - eosinophilie sanguine modérée
 - NF avant expérimentation : 6.200 leucocytes dont :
61% polynucléaires : 51% neutrophiles et 10% eosinophiles
39% mononucléaires : 35% lymphocytes et 4% monocytes

Observation n° 2 : Madame B. Georgette - 52 ans (790827)

- = infections ORL et bronchiques récidivantes depuis l'âge de 6 ans environ, sans épisode révélateur évident. Points particuliers :
- tuberculose pleuropulmonaire à 25 ans traitée par pneumothorax
 - infections ORL répétées avec intervention chirurgicale sur les sinus maxillaires à 37 ans
 - infections bronchiques plusieurs fois par an, surtout en climat humide, avec essai de diverses vaccinations anti-microbiennes
 - pas de tabagisme
 - NF avant expérimentation : 6.400 leucocytes dont :
79% polynucléaires : 76% neutrophiles et 3% eosinophiles
21% mononucléaires : 20% lymphocytes et 1% monocytes

Observation n° 3 : Madame B. Colette - 42 ans (800029)

- = infections pulmonaires récidivantes dont la révélation coïncide avec le début du tabagisme. Points particuliers :
- antécédents infectieux variés : amygdalectomie à 14 ans pour angines à répétition, typhoïde à 18 ans, péritonite appendiculaire, infections urinaires récidivantes...
 - tabagisme depuis 1975 en rapport avec un syndrome dépressif
 - depuis 1975, répétition d'une dizaine de pneumopathies fébriles siégeant dans les lobes déclives, guérissant rapidement sous antibiotiques; essai de prévention par vaccination anti-bactérienne sans résultat.

- bronchographie actuelle : subnormale à droite, signes de bronchite à gauche.
- NF avant expérimentation : 6.000 leucocytes dont :
 - 41% polynucléaires : 38% neutrophiles et 3% eosinophiles
 - 59% mononucléaires : 54% lymphocytes et 5% monocytes

Observation n°4 : Monsieur C. Frédéric - 72 ans (N 1956)

- = infections bronchiques récidivantes sur insuffisance respiratoire post tuberculeuse. Points particuliers :
 - tuberculose pulmonaire à 33 ans traitée par pneumothorax
 - infections bronchiques répétées depuis l'âge de 40 ans, surtout hivernales, nécessitant une couverture antibiotique quasi permanente depuis l'âge de 65 ans, associée à une vaccination antimicrobienne et une kinésithérapie respiratoire.
 - pas de tabagisme
 - NF avant expérimentation : 9.200 leucocytes dont :
 - 45% polynucléaires : 43% neutrophiles et 2% eosinophiles
 - 55% mononucléaires : 53% lymphocytes et 2% monocytes

Observation n° 5 : Madame D. Angèle - 38 ans (14458)

- = infections ORL et bronchopulmonaires récidivantes sur fond de rhinorrhée et bronchorrhée chroniques évoluant depuis l'âge de 2 ans dans les suites d'une coqueluche. Points particuliers :
 - séjour en établissement climatique de 10 à 13 ans
 - pneumopathie aigue à 14 ans
 - infections ORL et bronchiques saisonnières avec mise en évidence de broncheectasies du lobe inférieur droit par bronchographie en 1972 et intervention sur les sinus maxillaires en 1979.
 - pas de tabagisme
 - NF avant expérimentation : 3.800 leucocytes dont :
 - 80% polynucléaires : 75% neutrophiles et 5% eosinophiles
 - 20% mononucléaires : 18% lymphocytes et 2% monocytes

Observation n° 6 : Monsieur F. Lucien - 71 ans (N 118)

- = infections bronchiques répétées sur bronchopneumopathie obstructive chronique dyspneisante évoluant depuis l'âge de 40 ans. Points particuliers :
 - tabagisme interrompu depuis une vingtaine d'années
 - traitement régulier par bronchodilatateurs + cures antibiotiques et cortisoniques + vaccinations antimicrobiennes.
 - NF avant expérimentation : 7.000 leucocytes dont :
 - 61% polynucléaires : 57% neutrophiles et 4% eosinophiles
 - 39% mononucléaires : 37% lymphocytes et 2% monocytes.

Observation n° 7 : Monsieur G. Jean-Pierre - 33 ans (790819)

= infections ORL et bronchopulmonaires récidivantes depuis l'âge de 5 ans sur fond de bronchorrhée chronique. Points particuliers :

- bronchopneumopathie sévère à 5 ans
- amygdalectomie à 7 ans
- infections bronchiques fréquentes chaque année et pneumopathie fébrile du sommet gauche début 1979
- sinusite fin 1979 avec sécrétions nasales purulentes et opacité bilatérale des sinus maxillaires en radiographie
- tabagisme pendant quelques années (interrompu depuis 1968).
- NF avant expérimentation : 5.200 leucocytes dont :
 - 41% polynucléaires : 40% neutrophiles et 1% eosinophiles
 - 59% mononucléaires : 55% lymphocytes et 4% monocytes

Observation n° 8 : Monsieur G. Charles - 60 ans (N 2996)

= infections bronchiques récidivantes sur bronchopneumopathie obstructive chronique dyspnéisante évoluant depuis une dizaine d'années. Points particuliers :

- bronchorrhée préastmatique depuis l'âge de 22 ans
- asthme intrinsèque apparu à 50 ans
- lésions emphysémateuses confirmées par angiopneumographie en 1976
- tabagisme interrompu en 1979
- traitement régulier par bronchodilatateurs + cures antibiotiques et cortisoniques + vaccinations antimicrobiennes
- NF avant expérimentation : 10.400 leucocytes dont :
 - 34% polynucléaires : 32% neutrophiles et 2% eosinophiles
 - 66% mononucléaires : 61% lymphocytes et 5% monocytes

Observation n° 9 : Monsieur P. René - 74 ans (790136)

= infections bronchopulmonaires récidivantes sur insuffisance respiratoire chronique post tuberculeuse. Points particuliers :

- tuberculose pulmonaire en 1954
- tabagisme important interrompu en 1954
- pneumonie aigue du lobe inférieur droit en février 1979 avec récurrence dans le même territoire en Octobre 1979
- infections bronchiques fréquentes et sévères pendant l'hiver
- NF avant expérimentation : 7.200 leucocytes dont :
 - 56% polynucléaires : 52% neutro - 3% eosino - 1% basophiles
 - 44% mononucléaires : 40% lymphocytes et 4% monocytes

Observation n°10 : Monsieur V. André - 31 ans (N4456)

= infections ORL et bronchiques récidivantes depuis l'âge de 25 ans sans facteur déclenchant évident. Points particuliers :

- coqueluche à 5 ans -
- infections bronchiques répétées depuis l'âge de 25 ans avec mise en évidence par bronchographie en 1978 d'adénolécstasies des bronches lobaires supérieures et de discrètes bronchectasies de la lobaire inférieure gauche.

- rhinites purulentes fréquentes, précédant souvent les infections bronchiques
- pas de tabagisme
- Ig E sériques (RIST) très élevées à plusieurs reprises : 6.900×10^3 U/l en Mars 1980 (N : 200×10^3 U/l) avec tests cutanés allergologiques négatifs
- eosinophilie sanguine habituellement élevée avec bilan parasitologique négatif
- NF avant expérimentation : 11.800 leucocytes dont :
 65% polynucléaires : 45% neutrophiles et 20% eosinophiles
 35% mononucléaires : 27% lymphocytes et 8% monocytes

2) L'étude de la migration leucocytaire

L'étude quantitative de la migration leucocytaire in vivo a été réalisée au lit du malade avec la cellule de migration leucocytaire P.L. selon la technique présentée page 58.

A noter qu'une étude de la migration leucocytaire in vitro (test des cellules) a été réalisée parallèlement au premier test in vivo dans 5 cas sur 10.

3) La vaccination antibactérienne (32 - 47)

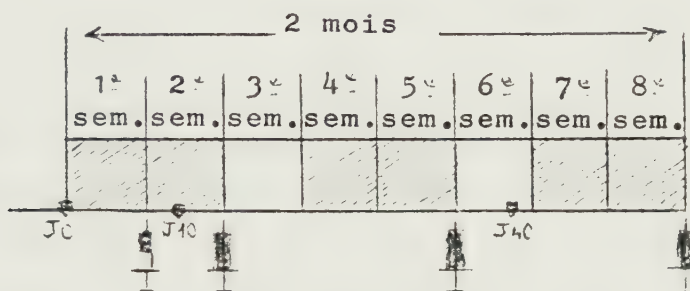
Elle a été réalisée avec une préparation vaccinale constituée de ribosomes bactériens adjuvés par des peptidoglycanes membranaires et commercialisée sous forme aérosol et injectable sous le nom de RIBOMUNYL (Laboratoires INAVA)*. Ce produit comporte 2 sortes de fractions :

- fractions ribosomales formées par les ribosomes isolés de *Klebsellia Pneumoniae* (35%), *Diplococcus Pneumoniae* (30%), *Streptococcus Pyogenes* (30%) et *Hemophilus Influenzae* (5%), titrés à 70% d'ARN.
- fractions membranaires formées par des glycoprotéines de *Klebsellia Pneumoniae*

* Conception et maîtrise de la réponse immune
 Monographie - Laboratoires INAVA - 1978

4) Protocole de l'expérimentation pharmacoclinique

• Le schéma thérapeutique de vaccination par RIBOMUNYL associe la forme aérosol et la forme injectable selon le protocole suivant proposé par les Laboratoires INAVA :



aérosol : 1 dose dans chaque narine et dans l'oropharynx matin et soir , en 3 cures de 2 semaines séparées de 1 semaine d'intervalle .



injection sous cutanée (fosse sus épineuse) :

1/2 ampoule à la fin de la 1ère semaine

1 ampoule à la fin des 2ème - 5ème et 8ème semaines .

Toute thérapeutique nécessaire, en particulier antibiotique, a été associée à cette vaccination, en dehors bien sûr de tout autre traitement "immunomodulateur" .

• Le test de migration leucocytaire a été pratiqué à 3 reprises sur chacun des 10 sujets en essai thérapeutique (population E) :

- le 1er avant toute vaccination (test dénommé test J0)
- le 2ème au milieu de la 2ème semaine de vaccination (J10)
- le 3ème à la fin de la 6ème semaine de vaccination (J40)

En fait, pour des raisons pratiques, 3 sujets sur les 10 n'ont pu subir correctement que les 2 premiers tests (J0 et J10) .

Ces 3 séries de tests (J0, J10 et J40) peuvent être classées en 2 groupes :

- tests initiaux avant vaccination (J0)
- tests ultérieurs pendant vaccination , associée bien sûr au traitement symptomatique habituel (J10 + J40) .

5) Les témoins

Ils ont été groupés en 2 catégories :

- + les témoins sains (Ts) : cette population établie par P. LAURENT comportait initialement 21 sujets recrutés parmi le personnel hospitalier et universitaire, répartis en 12 hommes et 9 femmes avec un âge moyen de 29,5 ans (valeurs extrêmes : 22 ans et 46 ans). Cette population a été secondairement réduite à 15 personnes car 4 sujets avaient subi une abrasion cutanée insuffisante et 2 sujets présentaient un état pathologique bénin (rhinite allergique, syndrome grippal).
- + les témoins pneumologiques (Tp) : cette population comporte 7 sujets présentant des infections bronchopulmonaires à pyogènes récidivantes et recevant uniquement le traitement symptomatique habituel c'est-à-dire non vaccinés par RIBOMUNYL (ni bien sûr toute autre vaccination antimicrobienne). Elle comporte 3 hommes et 4 femmes avec un âge moyen de 52,4 ans (valeurs extrêmes : 21 ans et 78 ans). Chacun de ces témoins a subi 2 ou 3 tests in vivo (19 tests en tout) selon la même chronologie que la population E (J0, J10 et J40). Ces 3 séries de tests peuvent donc être également classées en 2 groupes :
 - . tests initiaux avant traitement symptomatique habituel en particulier antibiotique (J0)
 - . tests ultérieurs après traitement symptomatique habituel mais sans vaccination par RIBOMUNYL (J10 + J40).

B - RESULTATS

1) Données numériques

Elles portent sur 3 paramètres :

- nombre total de cellules ayant migré à l'intérieur du filtre micropore (observé au microscope par couches distantes de 10 microns)
- distance maximale parcourue par les cellules à l'intérieur du filtre (en microns)
- index de migration calculé selon la formule exposée page 60

a - population de témoins sains Ts

	nombre de cellules	distance parcourue	index de migration
Ts n° 1	996	55,50	10,16
Ts n° 2	627	55,40	11,36
Ts n° 3	512	60	12,28
Ts n° 4	1075	67,75	16,48
Ts n° 5	584	59	13,16
Ts n° 6	1015	57,75	10,95
Ts n° 7	1012	61,25	15,35
Ts n° 8	701	48,75	10,49
Ts n° 9	813	57,50	13,55
Ts n° 10	905	60	13,85
Ts n° 11	851	61	12,78
Ts n° 12	903	60	15,37
Ts n° 13	957	55	15,18
Ts n° 14	843	58	16,58
Ts n° 15	851	59	13,01
Total	12645	875,90	200,55
moyenne	843	58,39	13,37
écart type	169	4,09	2,10

Ainsi ces résultats ont permis à P. LAURENT d'établir une échelle de lecture de référence avec les valeurs suivantes :

- + nombre total moyen de cellules migrant à l'intérieur du filtre
= 843 ± 169 cellules
- + distance maximale moyenne parcourue par les cellules à l'intérieur du filtre :
= $58,39 \pm 4,09$ microns
- + index moyen de migration
= $13,37 \pm 2,10$

b - population de témoins pneumologiques Tp

Les 19 tests pratiqués chez 7 "témoins pneumologiques" non vaccinés par RIBOMUNYL (selon la même séquence que pour la population essai thérapeutique c'est-à-dire J0, J10 et J40) ont donné les résultats suivants :

	nombre de cellules			distance parcourue			index de migration		
	J0	J10	J40	J0	J10	J40	J0	J10	J40
N°1	350	868	720	22,50	43	46	4,36	8,82	9,02
N°2	987	796	830	50	40	42	9,13	7,25	6,25
N°3	700	765	604	42	40	45,25	10,63	7,09	8,46
N°4	684	567	-	58,33	40	-	12,63	6,93	-
N°5	607	653	771	31,25	48,75	54,50	6,65	10,51	11,73
N°6	704	658	712	59	54,30	58,04	13,45	13,02	13,40
N°7	639	-	775	39	-	43	6,30	-	7,09
Total	4671	4307	4412	302,08	266,05	288,79	63,15	53,62	55,95
Moyenne	667,28	717,83	735,33	43,15	44,34	48,13	9,02	8,93	9,32

Ces résultats peuvent être classés en 2 groupes :

- tests initiaux (J0) correspondant aux premiers tests pratiqués chez des sujets présentant des infections bronchopulmonaires récidivantes à pyogènes (groupe similaire à la population "essai thérapeutique" à J0)
- tests ultérieurs (J10 + J40) correspondant à des tests répétés chez des sujets "infectés" recevant le traitement symptomatique habituel, en particulier antibiotique, mais pas de vaccination antibactérienne.

Les moyennes des paramètres de ces 2 groupes sont alors les suivantes :

	nombre de cellules		distance parcourue		index de migration	
	J0	J10 + J40	J0	J10 + J40	J0	J10 + J40
Moyenne	667,28	726,58	43,15	46,23	9,02	9,13
Ecart type	173,21	87,64	12,62	6,02	3,16	2,37

c - population essai thérapeutique E

Les 27 tests pratiqués chez 10 "patients pneumologiques" avant et pendant vaccination par RIBOMUNYL ont donné les résultats suivants :

observ.	nombre de cellules			distance parcourue			index de migration		
	J0	J10	J40	J0	J10	J40	J0	J10	J40
N°1	126	571	516	21,75	37,50	41,50	4,93	7,22	8,12
N°2	513	648	-	30	49	-	5,62	12,03	-
N°3	376	368	622	37	32	49,56	8,26	6,05	13,02
N°4	702	1053	799	51	44,67	57,33	9,26	11,35	13,30
N°5	656	991	525	41,33	49	40	8,96	11,44	7,11
N°6	472	707	665	56,67	38,67	41,13	13,66	7,46	7,59
N°7	430	741	-	36	50	-	6,90	13,41	-
N°8	705	459	509	41	57	56	9,03	13,09	11,95
N°9	400	420	-	46	49,50	-	8,01	8,80	-
N°10	620	780	795	52,03	59,10	57,85	12,80	13,39	13,08
Total	5000	6738	4431	412,78	466,44	343,37	87,43	104,24	74,17
Moyenne	500	673	633	41,27	46,64	49,05	8,74	10,42	10,59

Ces résultats peuvent être classés en 2 groupes :

- tests initiaux (J0) correspondant aux premiers tests pratiqués chez des sujets présentant des infections bronchopulmonaires récidivantes à pyogènes (groupe similaire à la population "témoins pneumologiques" à J0)
- tests ultérieurs (J10 + J40) correspondant à des tests répétés chez des sujets "infectés" recevant, en plus du traitement symptomatique habituel, en particulier antibiotique, une vaccination antibactérienne par RIBOMUNYL.

Les moyennes des paramètres de ces 2 groupes sont alors les suivantes :

	nombre de cellules		distance parcourue		index de migration	
	J0	J10 + J40	J0	J10 + J40	J0	J10 + J40
Moyenne	500	657	41,27	47,63	8,74	10,49
Ecart type	171,07	184,57	10,11	7,96	2,63	2,64

2) Répartition des populations

- . comparaison par histogramme (figure 1) et par nuages de points (figure 2) des 3 populations étudiées :
 - population de témoins sains Ts
 - population de témoins pneumologiques Tp à J0
 - population essai thérapeutique E à J0
- . comparaison par histogramme (figure 3) et par nuages de points (figure 4) de la population de témoins sains Ts et de la population pneumologique globale (Tp + E) à J0 qui regroupe des sujets présentant tous des infections bactériennes broncho-pulmonaires récidivantes.

3) Distribution des populations

= comparaison de la population E avant et pendant vaccination antibactérienne par RIBOMUNYL aux 2 populations témoins :

- . distribution des populations
 - Tp à J0 avant traitement symptomatique habituel
 - Tp à (J10 + J40) sous traitement habituel
 - E à J0 avant traitement habituel et vaccination par RIBOMUNYL
 - E à (J10 + J40) sous traitement habituel + RIBOMUNYLpar histogramme (figure 5)
par nuages de points (figure 6)
- . distribution des populations
 - E à J0 avant traitement habituel et vaccination par RIBOMUNYL
 - E à (J10 + J40) sous traitement habituel + RIBOMUNYL
 - Ts : population saine ne justifiant ni traitement ni vaccinationpar histogramme (figure 7)
par nuages de points (figure 8)

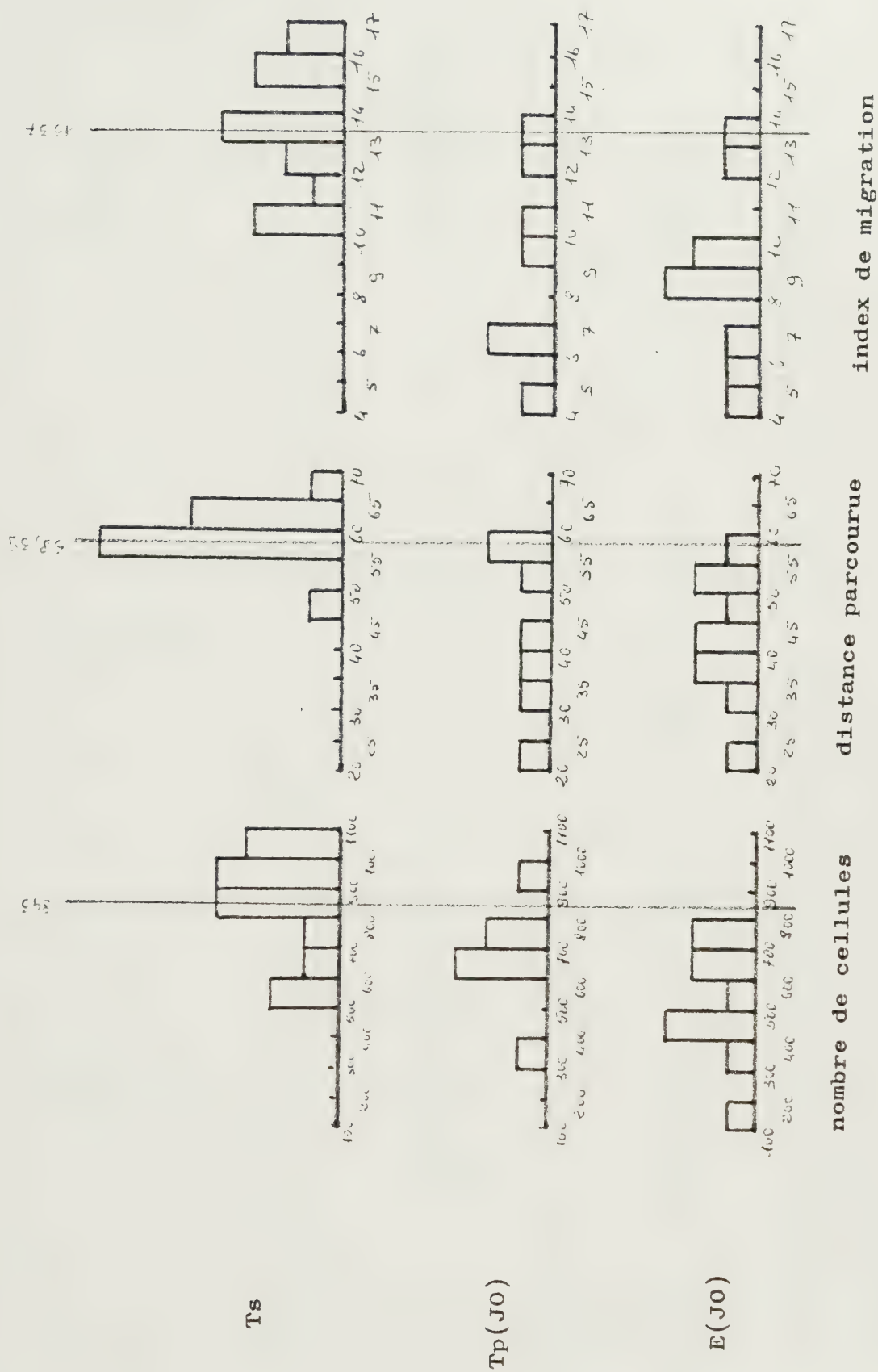


FIGURE 1

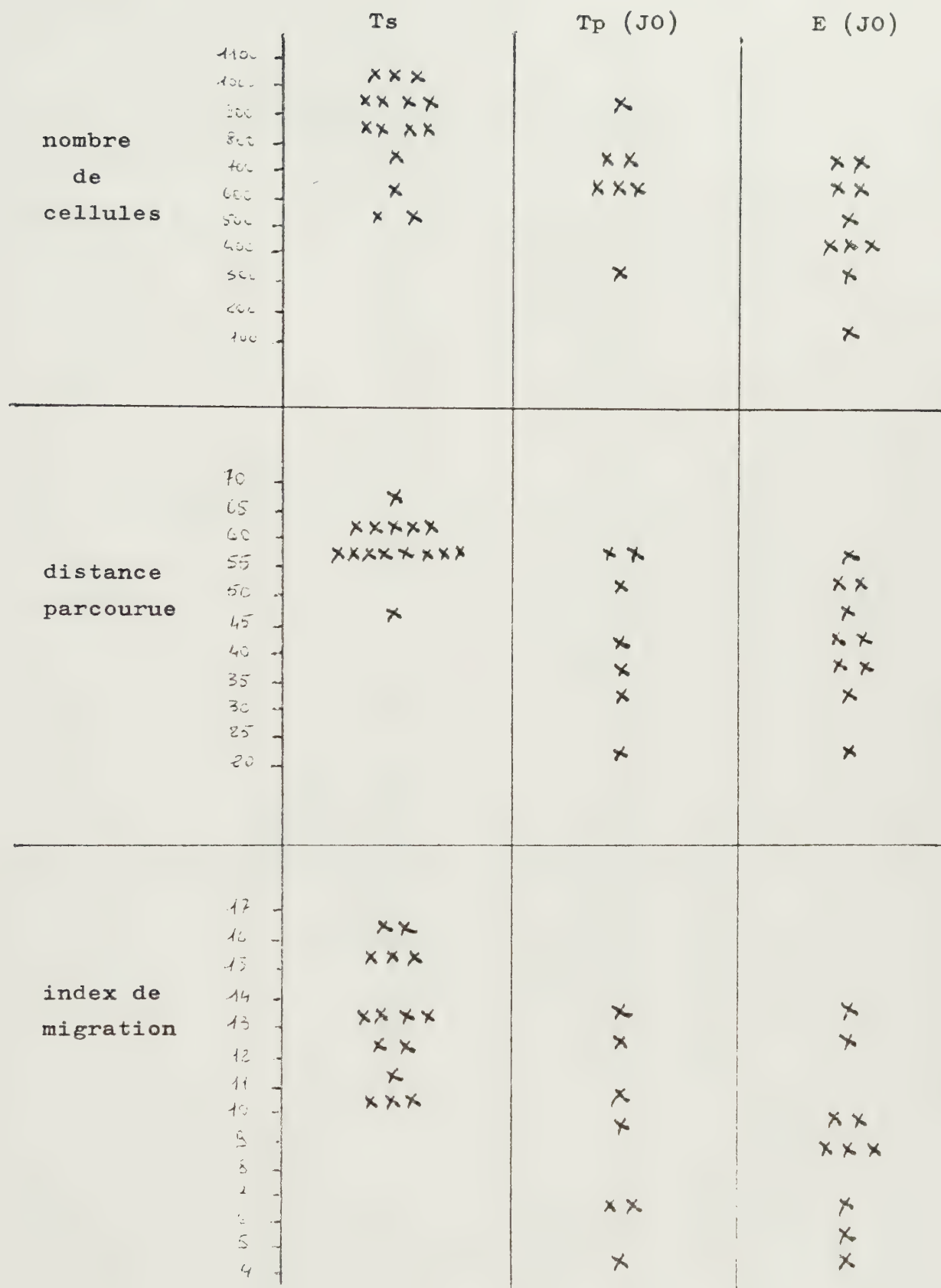


FIGURE 2

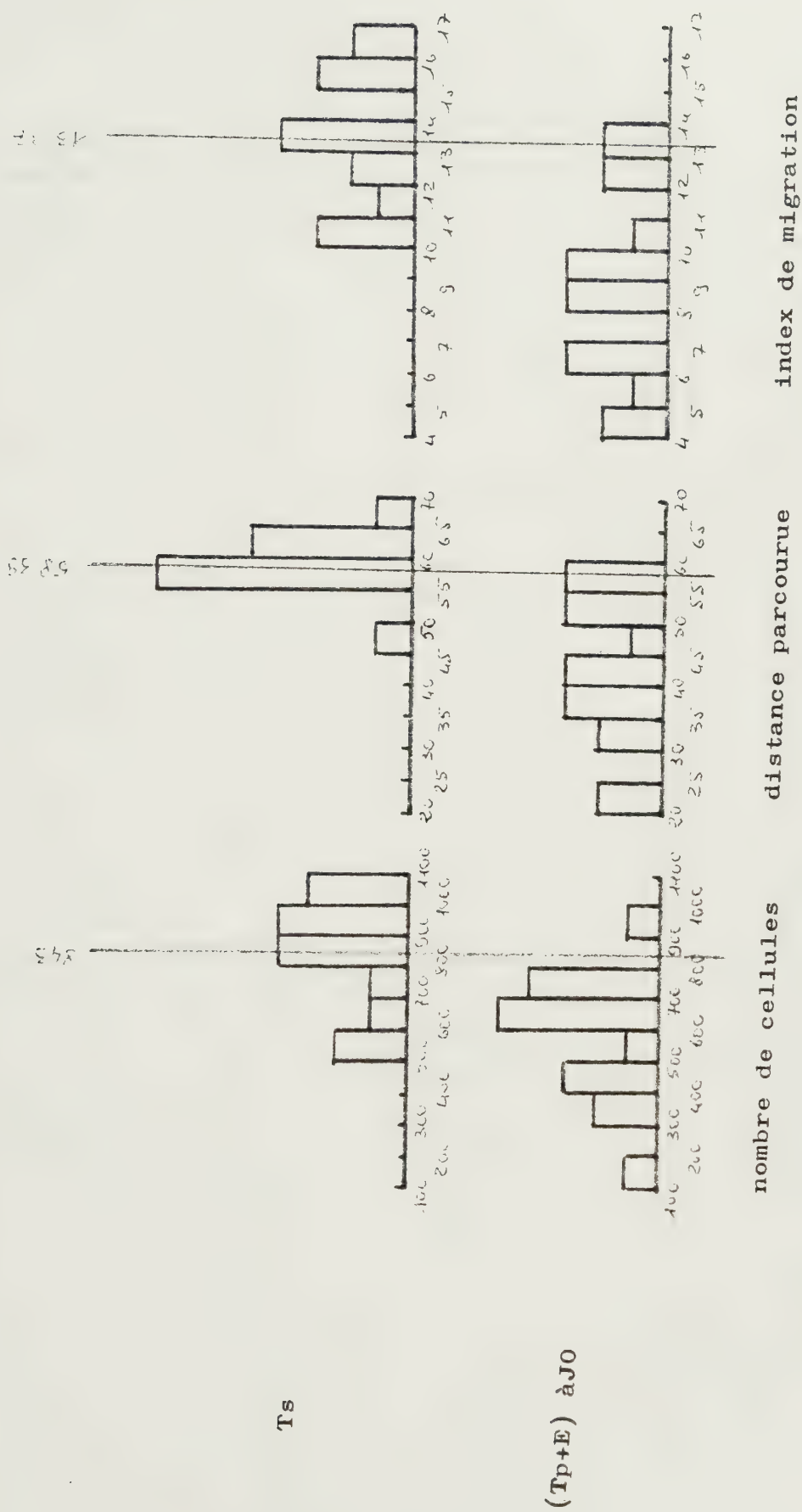


FIGURE 3

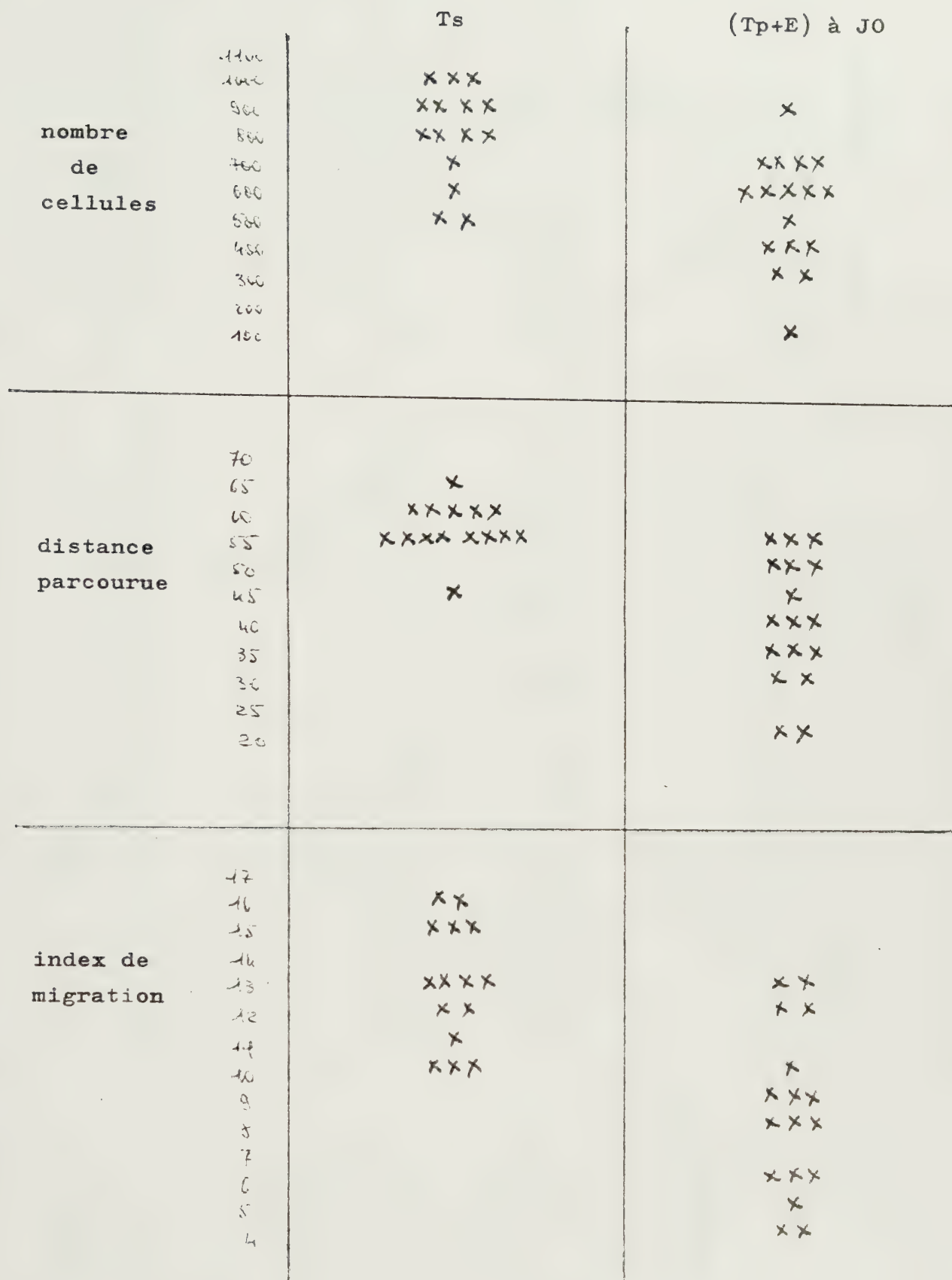


FIGURE 4

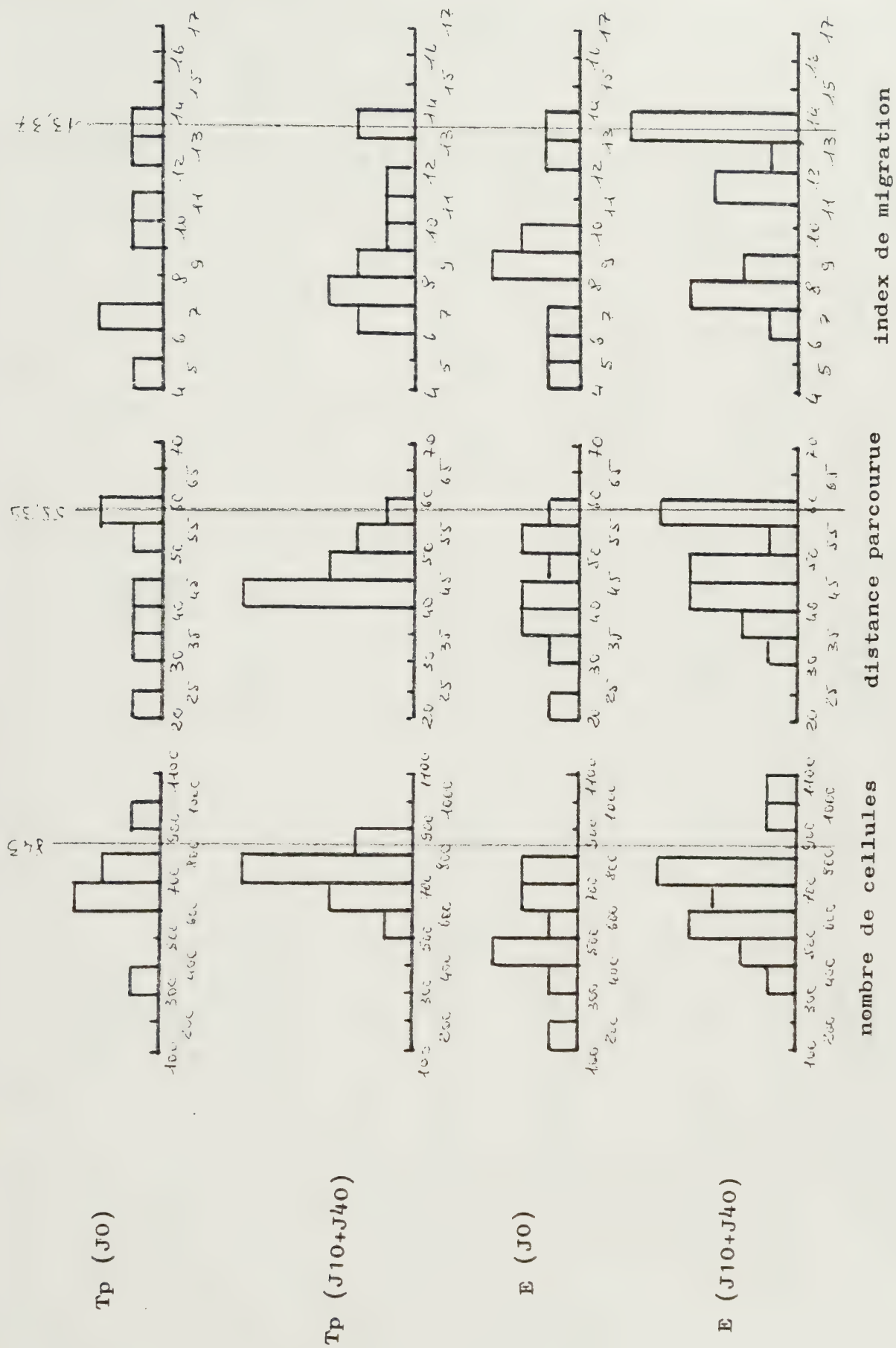


FIGURE 5

		Tp (J0)	Tp(J10+J40)	E (J0)	E (J10+J40)
nombre de cellules	1100				
	1000				x
	900	x			x
	800		xx		
	700	xx	xxxxxx	xx	xxxxxx
	600	xxx	xxx	xx	xxx
	500		x	x	xxxx
	400			xxx	xx
	300	x		x	x
	200				
	100			x	
distance parcourue	70				
	65				
	60				
	55	xx	x	x	xxxxx
	50	x	xx	xx	x
	45		xxx	x	xxx
	40	x	xxxxxx	xx	xxx
	35	x		xx	xx
	30	x		x	x
	25				
	20	x		x	
index de migration	17				
	16				
	15				
	14				
	13	x	xx	x	xxxxxx
	12	x		x	x
	11		x		xxx
	10	x	x		
	9	x	x	xx	
	8		xx	xxx	xx
	7		xxx		xxxx
	6	xx	xx	x	x
	5			x	
	4	x		x	

FIGURE 6

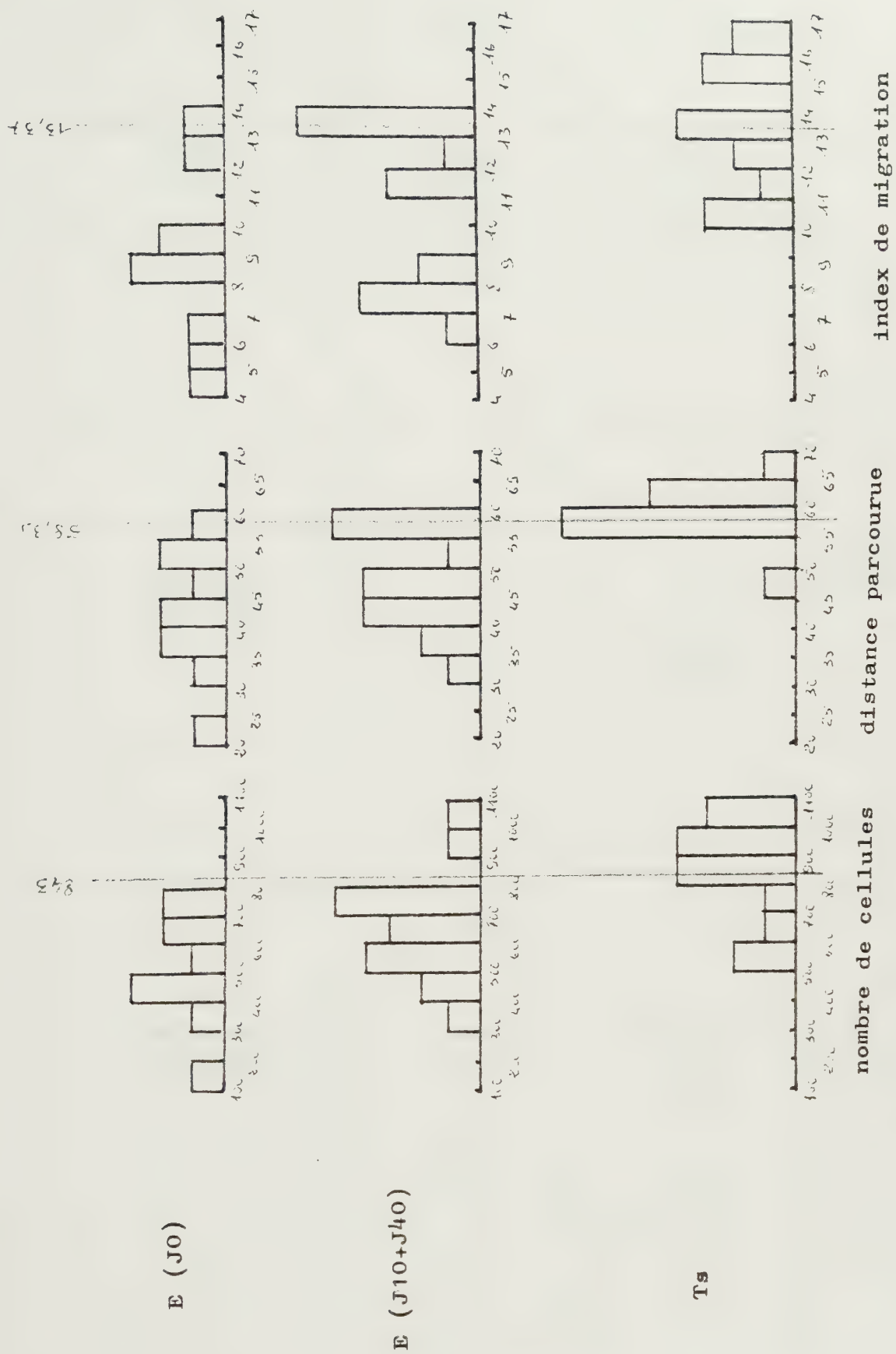


FIGURE 7

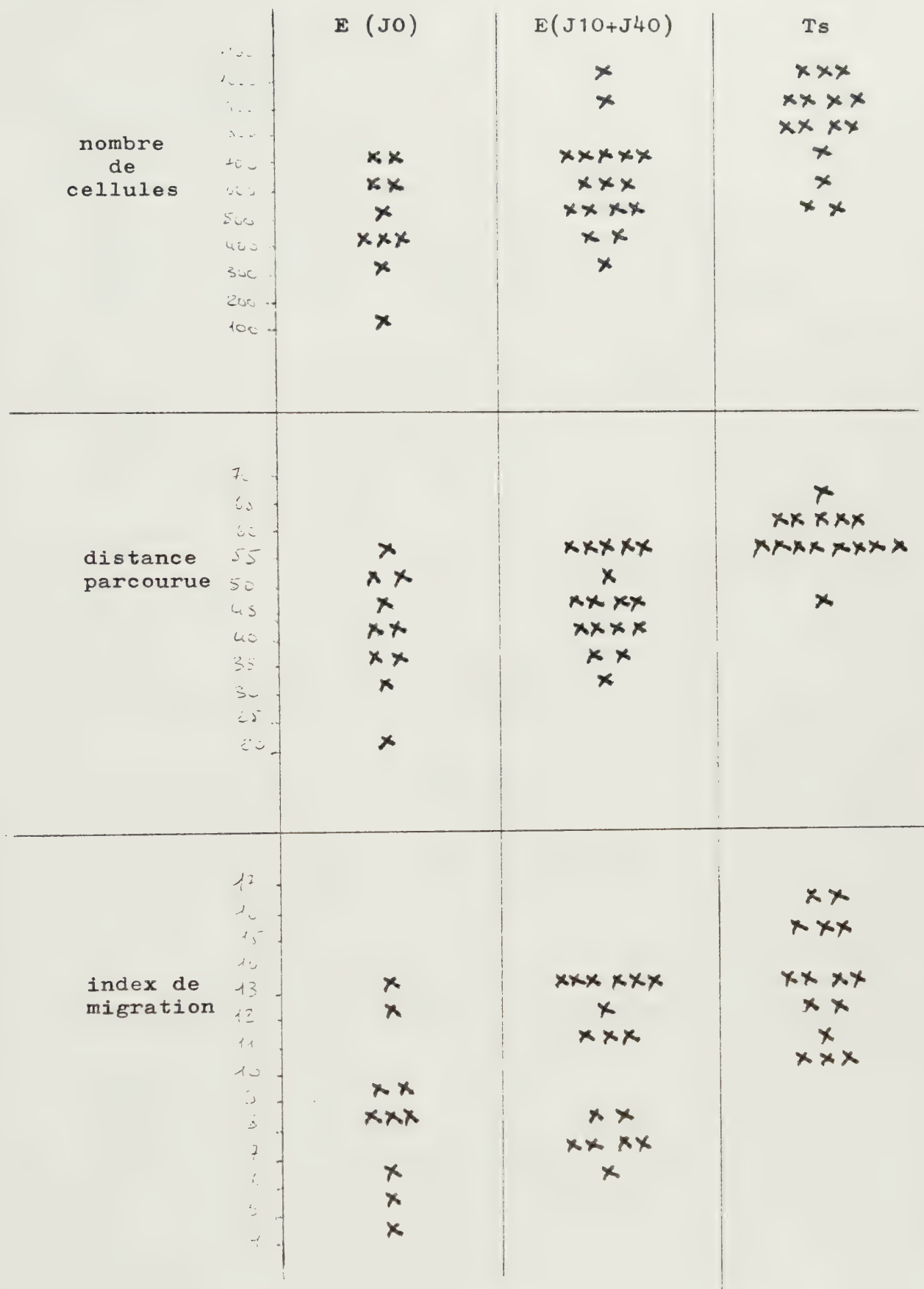


FIGURE 8

4) Etude analytique

- . Expression en pourcentage de l'écart type des valeurs de référence des témoins sains Ts :
 - nombre de cellules : 843 ± 169 : $\pm 20\%$
 - distance parcourue : $58,39 \pm 4,09$: $\pm 7\%$
 - index de migration : $13,37 \pm 2,10$: $\pm 15,7\%$
- . Pourcentage de déficit des moyennes de Tp par rapport à Ts à J0 :
 - nombre de cellules : - 20,8%
 - distance parcourue : - 26,1%
 - index de migration : - 32,5%
- . Pourcentage de déficit des moyennes de E par rapport à Ts à J0 :
 - nombre de cellules : - 40,7%
 - distance parcourue : - 29,3%
 - index de migration : - 34,6%
- . Moyennes des tests (Tp + E) à J0 (= population pneumologique globale) :
 - nombre de cellules : 568,88 cellules
 - distance parcourue : 42,05 microns
 - index de migration : 8,85
- . Pourcentage de déficit des moyennes de (Tp + E) par rapport à Ts à J0 : (population pneumologique globale par rapport à population saine) :
 - nombre de cellules : - 32,5%
 - distance parcourue : - 28%
 - index de migration : - 33,8%

- Pourcentage de déficit des moyennes de Tp par rapport à Ts à (J10 + J40) : (= sous traitement habituel mais sans RIBOMUNYL)
 - nombre de cellules : - 13,8%
 - distance parcourue : - 20,8%
 - index de migration : - 31,7%

- Pourcentage de déficit des moyennes de E par rapport à Ts à (J10 + J40) : (= sous traitement habituel + RIBOMUNYL)
 - nombre de cellules : - 22,1%
 - distance parcourue : - 18,4%
 - index de migration : - 21,5%

- Pourcentage de variation des moyennes de JO à (J10 + J40) :
 - pour Tp :
 - nombre de cellules : + 8,9%
 - distance parcourue : + 7,1%
 - index de migration : + 1,2%
 - pour E :
 - nombre de cellules : + 31,4%
 - distance parcourue : + 15,4%
 - index de migration : + 20%

- Expression en pourcentage de l'écart type des moyennes obtenues à J0 et (J10 + J40) :

- pour Tp à J0

nombre de cellules : 667,28 $\pm$ 173,21 : $\pm$ 25,95%

distance parcourue : 43,15 $\pm$ 12,62 : $\pm$ 29,24%

index de migration : 9,02 $\pm$ 3,16 : $\pm$ 35,03%

- pour Tp à (J10 + J40)

nombre de cellules : 726,58 $\pm$ 87,64 : $\pm$ 12,06%

distance parcourue : 46,23 $\pm$ 6,02 : $\pm$ 13,02%

index de migration : 9,13 $\pm$ 2,37 : $\pm$ 25,95%

- pour E à J0 :

nombre de cellules : 500 $\pm$ 171,07 : $\pm$ 34,21%

distance parcourue : 41,27 $\pm$ 10,11 : $\pm$ 24,49%

index de migration : 8,74 $\pm$ 2,63 : $\pm$ 30,09%

- pour E à (J10 + J40) :

nombre de cellules : 657 $\pm$ 184,57 : $\pm$ 28,09%

distance parcourue : 47,63 $\pm$ 7,96 : $\pm$ 16,71%

index de migration : 10,49 $\pm$ 2,64 : $\pm$ 25,16%

5) Résultats comparatifs in vitro/in vivo

5 des 10 patients de la population E ont subi un test in vitro (test des cellules interprété par Y. FROBERT de l'Institut PASTEUR) de façon contemporaine au premier test in vivo (J0)

	TEST IN VIVO			TEST IN VITRO (conclusions)
	nombre	distance	index	
valeurs normales	843 $\pm$ 169	58,39 $\pm$ 4,09	13,37 $\pm$ 2,10	
obs.N°1	126	21,75	4,93	- migration non activée normale - réponse aux facteurs leucoattractants normale en sérum témoin, nulle en sérum autologue
obs.N°2	513	30	5,62	- migration non activée normale - réponse aux facteurs leucoattractants normale en sérum témoin, nulle en sérum autologue
obs.N°3	376	37	8,26	- migration non activée et réponse chimiotactique très diminuées
obs.N°7	430	36	6,90	- migration non activée normale - réponse aux facteurs chimiotactiques diminuée, surtout en sérum autologue
obs.N°10	620	52,03	12,80	- migration non activée normale (beaucoup plus forte en présence de sérum autologue) - réponse chimiotactique normale

C - DISCUSSION

Il est possible, à la lumière de notre étude bibliographique et expérimentale, d'apporter certains éléments de réponse aux nombreuses questions qui se posent :

1° - Pourquoi étudier la migration leucocytaire en pathologie respiratoire infectieuse ? - L'importance du rôle des cellules phagocytaires (polynucléaires neutrophiles et macrophages) dans la défense du poumon contre les agressions particulières, tout spécialement microbiennes, est unanimement reconnue (cf 1ère partie). Or, la capacité de migration de ces cellules au site de l'agression microbienne conditionne la mise en jeu de leur activité phagocytaire et bactéricide. Les mécanismes et les anomalies de la chimiotaxie leucocytaire sont exposés dans la 2ème partie de cet ouvrage. Cliniquement, les très rares déficits congénitaux de la migration leucocytaire s'accompagnent volontiers d'une susceptibilité accrue aux infections à pyogènes chez des enfants et il est intéressant de rechercher s'il existe chez l'adulte souffrant d'infections bronchopulmonaires récidivantes une telle association avec un déficit de la chimiotaxie.

2° - Comment étudier la migration leucocytaire ? - Actuellement, l'étude porte essentiellement sur la migration des polynucléaires neutrophiles. Les méthodes in vitro dérivées de la chambre de BOYDEN à filtre micropore sont d'un usage relativement courant dans les laboratoires spécialisés (cf 2ème partie); elles permettent une analyse quantitative de la migration leucocytaire en présence de sérum témoin et de sérum du patient, avec détermination d'un index leucotactique faisant intervenir à la fois le nombre de cellules ayant migré dans le filtre et la distance parcourue par ces cellules; l'écart type de cet index leucotactique est de l'ordre de 14% (cf pages 55 - 56). Une méthode in vitro simplifiée (test des cellules) reposant uniquement sur la distance parcourue par les cellules (mesurée par la technique du "leading front") fournit une première estimation de la migration leucocytaire in vitro. Les méthodes in vivo, bien que plus "physiologiques", avaient jusqu'à présent suscité peu d'intérêt du fait de leur manque de reproductibilité et du caractère purement qualitatif de leurs résultats.

Nous présentons dans cet ouvrage une méthode in vivo originale permettant l'analyse quantitative de la migration leucocytaire à partir d'une abrasion cutanée (cellule de migration P.L. - cf page 58). Cette méthode permet également de déterminer un index de migration fonction à la fois du nombre de cellules ayant migré dans un filtre et de la distance parcourue par ces cellules; ces résultats quantitatifs sont faiblement dispersés par rapport aux valeurs moyennes de référence : l'index de migration moyen des témoins sains présente un écart type de 15,7% c'est-à-dire du même ordre que celui de l'index leucotactique obtenu in vitro. Il n'a pas été réalisé dans notre étude de bilan comparatif systématique in vivo/in vitro; néanmoins, 5 sujets ont subi de façon contemporaine un test in vivo et un test des cellules qui présentent 5 fois sur 5 une très bonne concordance (cf page 116). En outre, les échecs d'ordre technique de la méthode in vivo sont rares avec un personnel qualifié. Il semble donc s'agir d'une méthode fiable et reproductible. Par ailleurs, l'étude de la migration des monocytes-macrophages fait l'objet de nombreux travaux qui restent du domaine de la recherche et qui concernent tout particulièrement les macrophages alvéolaires.

3° - Quels renseignements fournit l'analyse de la migration leucocytaire en pathologie respiratoire infectieuse ? - Notre étude portant sur des sujets souffrant d'infections broncho-pulmonaires récidivantes à pyogènes montre que ceux-ci présentent sur les moyennes des trois paramètres un déficit statistiquement significatif de la migration leucocytaire in vivo. Ainsi, l'index de migration moyen de la population pneumologique globale de notre étude, à savoir population de témoins pneumologiques Tp + population essai thérapeutique E, se situe à 33,8% en dessous de l'index de migration moyen des témoins sains Ts, donc très au delà des 15,7% de l'écart type. Cette constatation très intéressante amène plusieurs remarques :

- peut-on extrapoler à la muqueuse respiratoire des données recueillies au niveau d'une abrasion cutanée ? - on rappelle qu'un déficit de la chimiotaxie peut être du soit à une anomalie cellulaire intrinsèque, soit à un défaut de production de facteurs chimiotactiques, soit à la présence d'inhibiteurs de la chimiotaxie.

Il semble donc logique d'admettre que le déficit de la chimiotaxie est un phénomène général (d'autant que les tests in vitro fournissent des résultats concordants à partir d'un prélèvement sanguin) mais il est cependant concevable que des modifications soient liées à des conditions locales particulières (par exemple présence locale d'histamine à concentration inhibitrice sur la migration leucocytaire - cf page 84 - alors que la concentration d'histamine circulante est dépourvue de cet effet).

- si l'on admet qu'il existe un déficit de la migration leucocytaire au niveau de la muqueuse respiratoire chez les sujets présentant des infections bronchopulmonaires récidivantes, peut-on établir une relation entre le déficit biologique et l'affection clinique ? - Nous avons vu précédemment que les déficits congénitaux de la migration leucocytaire s'accompagnent en règle chez l'enfant d'une susceptibilité accrue aux infections (qui conduit d'ailleurs à la découverte de ce déficit...). Dans notre étude chez l'adulte, 13 sujets sur 17 de la population pneumologique globale (Tp + E) présentent un déficit significatif de leur index de migration. La fréquence de cette association paraît difficilement forfuite. Néanmoins, il faudrait connaître simultanément l'état des autres moyens de défense locaux et généraux (tapis mucociliaire, Ig A sécrétoire et autres immunoglobulines, complément...) pour déterminer la responsabilité propre de l'un ou de l'autre dans la genèse de ces infections récidivantes.

- en effet, si l'on admet qu'il existe un lien entre le déficit de la migration leucocytaire et la répétition des infections bronchopulmonaires, ce déficit peut certainement être tantôt la cause tantôt la conséquence de la perpétuation de l'infection. Ainsi, on peut admettre selon les cas :

. que la répétition des infections est secondaire à un trouble primitif de la chimiotaxie : soit trouble congénital "mineur" à révélation retardée, soit trouble acquis en rapport essentiellement avec la présence d'inhibiteurs de la chimiotaxie (parfois dans le cadre d'affections bien définies : par exemple myelome à Ig A - cf page 92).

. que la répétition des infections secondaire à une cause anatomique ou fonctionnelle précise (dilatation des bronches en particulier) est responsable de l'épuisement des cellules phagocytaires constamment sollicitées. Nous avons vu en effet qu'une infection bactérienne particulièrement aigue et sévère peut s'accompagner d'un déficit transitoire de la chimiotaxie (cf page 91) probablement lié à la mise en jeu de cellules granuleuses jeunes immatures ("polynucléaires toxiques") incapables d'assurer totalement leurs fonctions; on peut imaginer qu'un processus infectieux rebelle aboutisse dans certaines conditions au même résultat. Quoi qu'il en soit, ce déficit secondaire de la chimiotaxie aggrave l'infection initialement liée à un autre facteur favorisant, créant ainsi un véritable cercle vicieux.

4° - Comment préciser le mécanisme d'un trouble de la chimiotaxie ? - Ceci ne paraît actuellement réalisable qu'au titre de la recherche étant donné le nombre et la complexité des éléments impliqués : facteurs chimiotactiques (complément, lymphokines, prostaglandines, peptides bactériens...), structures cellulaires de la chimiotaxie (nucléotides cycliques...), facteurs modulateurs de la chimiotaxie (lymphokines, histamine..). Dans notre étude par exemple, il est à noter que deux sujets (observations n° 1 et 10) ont présenté par le passé des taux d'Ig E sériques très élevés; le sujet n° 1 présente au début de l'expérimentation (Novembre 1979) une hypergammaglobulinémie E considérable, une migration leucocytaire in vivo effondrée avec in vitro une réponse aux facteurs leucoattractants normale en sérum témoin et nulle en sérum autologue; tout ceci évoque fortement l'intervention d'un facteur inhibiteur sur la chimiotaxie et tout spécialement l'histamine. Le sujet n° 10 au contraire présente une migration leucocytaire subnormale in vivo avec in vitro une réponse chimiotactique normale mais nous ne disposons pas malheureusement de dosage des Ig E contemporain de ces explorations; celui-ci aurait été évidemment très intéressant de même qu'une étude de l'histamine... Il faut bien constater malgré tout que tous les sujets porteurs d'une hypergammaglobulinémie E ne sont pas atteints d'infections broncho-pulmonaires récidivantes.

5° - Quels renseignements apporte l'expérimentation pharmacoclinique avec RIBOMUNYL ? - RIBOMUNYL est une préparation médicamenteuse constituée de ribosomes bactériens adjuvés par des peptidoglycanes membranaires et proposée par les Laboratoires INAVA comme vaccination antibactérienne. Il faut bien préciser que l'efficacité clinique de ce produit qui fait l'objet de nombreux travaux (32) n'est pas le sujet de notre étude même si la plupart des appréciations formulées par les malades en cours de vaccination vont dans le sens d'une amélioration clinique subjective. En ce qui concerne la migration leucocytaire proprement dite, notre expérimentation portant sur une double population de sujets souffrant d'infections broncho-pulmonaires récidivantes, l'une recevant le traitement symptomatique habituel en dehors de tout traitement "immunomodulateur" (population témoin pneumologique Tp), l'autre recevant en plus du traitement symptomatique habituel une vaccination par RIBOMUNYL (population essai thérapeutique E), apporte les éléments suivants :

- . La population Tp, qui présente initialement un déficit significatif de la migration leucocytaire (-32,5% pour l'index de migration), présente sous traitement symptomatique habituel un déficit à peu près aussi important (-31,7%). L'index de migration passe de 9,02 à J0 à 9,13 à (J10 + J40), ce qui représente une variation de + 1,2%.

- . La population E, qui présente initialement un déficit significatif de la migration leucocytaire (-34,6% pour l'index de migration), présente sous traitement symptomatique habituel + RIBOMUNYL un déficit persistant de la migration leucocytaire mais nettement moins important (-21,5% alors que la limite inférieure de la normale se situe à -15,7%). L'index de migration passe de 8,74 à J0 à 10,49 à (J10 + J40), ce qui représente une variation de + 20%; l'écart type de 8,74 exprimé en pourcentage atteint 30,1%, chiffre en deçà duquel une variation ne peut être considérée comme statistiquement significative. En somme, dans le cadre strict de nos constatations, il apparaît que la vaccination par RIBOMUNYL détermine une variation de la migration leucocytaire qui n'est pas statistiquement significative mais qui, en comparaison d'une population témoin non vaccinée, permet d'admettre l'existence d'un effet biologique à ce niveau.

En outre, l'expérimentation n'a été réalisée que sur 6 semaines et l'analyse chronologique des résultats montre une augmentation de l'index de migration de + 19,22% de J0 à J10 (8,74 à 10,42), puis de + 21,16% de J0 à J40. Il serait intéressant de pratiquer un test supplémentaire au terme du programme de vaccination (vers J60) et même au delà pour juger du mode d'évolution des données recueillies. Quant au mécanisme de l'action présumée de RIBOMUNYL sur la migration leucocytaire, seul le bilan complémentaire déjà évoqué pourrait le préciser : production de dérivés chimiotactiques du complément (C5a surtout) grâce à l'activation de la voie alterne par des Ig A dont la synthèse serait stimulée par RIBOMUNYL (rôle des ribosomes ?)... ou bien production de peptides bactériens chimiotactiques à partir des fractions non ribosomales du produit (glycoprotéines membranaires ?).... ? Il est intéressant de noter que la variation sous RIBOMUNYL de la migration leucocytaire appréciée globalement par l'index de migration concerne plus le nombre de cellules recrutées (+ 31,4% de J0 à (J10 + J40)) que la distance parcourue (+ 15,4%).

6° - Quelles perspectives offre l'étude de la migration leucocytaire en pathologie respiratoire infectieuse ? - En dehors du progrès dans la compréhension de la survenue et de l'évolution de certaines infections bronchopulmonaires récidivantes, cette étude de la migration leucocytaire devrait aboutir avant tout bien sûr à un progrès thérapeutique en définissant les principes de correction des anomalies de la chimiotaxie (que celles-ci soient considérées comme responsables de l'infection ou bien secondaires à elle car alors elles l'entretiennent). Certains essais thérapeutiques font état de transfusions de granulocytes en cas de troubles des fonctions granulocytaires et notamment de la chimiotaxie (52) avec d'ailleurs des résultats semble-t-il intéressants... Néanmoins, de telles pratiques ne vont certainement pas sans problème et l'idéal serait bien sûr de pouvoir stimuler directement l'activité chimiotactique défectueuse (ou même normale mais insuffisante relativement à la sévérité d'un processus infectieux). Dans ce sens, notre expérimentation avec RIBOMUNYL soulève des hypothèses intéressantes...

CONCLUSIONS

Après avoir situé au sein des moyens de défense antibactérienne du poumon la place des cellules phagocytaires représentées par les polynucléaires neutrophiles et par les macrophages dérivés des monocytes circulants , nous avons réalisé une étude bibliographique de la migration leucocytaire qui permet l'intervention de ces cellules au site de l'agression microbienne . Cette approche théorique objective l'intérêt et les problèmes de l'étude systématique de l'activité des cellules phagocytaires au cours des processus infectieux rebelles et notamment de la chimiotaxie leucocytaire c'est-à-dire de la migration dirigée des leucocytes en réponse à des facteurs chimioattractants . Dans ce sens , nous avons entrepris, chez des sujets présentant des infections bactériennes broncho-pulmonaires récidivantes , une expérimentation pharmacoclinique comportant l'analyse quantitative de la migration leucocytaire in vivo (selon une technique originale mise au point par P. LAURENT de l'Institut PASTEUR de LYON) avant et après vaccination antibactérienne par une préparation médicamenteuse constituée de ribosomes bactériens adjuvés par des peptidoglycanes membranaires (RIBOMUNYL - LABORATOIRES INAVA) .

Les résultats de cette expérimentation menée en comparaison à une population de témoins sains et à une population de témoins pneumologiques atteints d'une pathologie respiratoire infectieuse récidivante comme les sujets en expérimentation mais non vaccinés par RIBOMUNYL , permettent de retenir les points suivants :

-La "cellule de migration leucocytaire P.L." constitue une technique simple et reproductible d'étude de la migration leucocytaire in vivo . Elle permet une appréciation quantitative de la migration leucocytaire avec détermination d'un index de migration faisant intervenir à la fois le nombre de cellules ayant migré et la distance parcourue par celles-ci . Il semble exister une corrélation entre les résultats obtenus selon cette technique et ceux fournis par les méthodes in vitro .

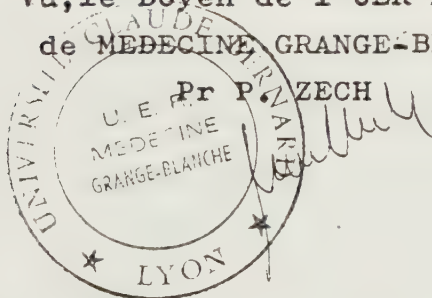
-Les sujets atteints d'infections bactériennes broncho-pulmonaires récidivantes présentent un déficit statistiquement significatif de la migration leucocytaire in vivo . Des examens complémentaires sont nécessaires pour préciser si ce déficit est la cause ou la conséquence de la persistance de l'infection .

-Le traitement par RIBOMUNYL chez les sujets présentant des infections bactériennes bronchopulmonaires récidivantes détermine une variation de la migration leucocytaire déficiente qui semble traduire un effet biologique sur celle-ci . Des examens complémentaires sont nécessaires pour préciser le mode d'action de ce produit à ce niveau .

Cette étude constitue un travail préliminaire qui pourrait être poursuivi par la mise au point d'un bilan immunologique précis permettant de déterminer de façon systématique les mécanismes des anomalies de la migration leucocytaire révélées cliniquement et de définir les principes de leur correction spontanée ou thérapeutique .

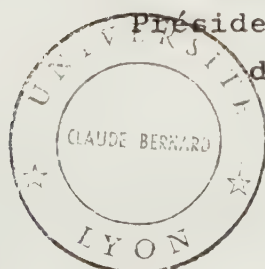
[Signature]
Le Président de la thèse
Pr M. PERRIN FAYOLLE

Vu, le Doyen de l'UER FACULTE
de MEDECINE GRANGE-BLANCHE



VU ET PERMIS D'IMPRIMER
LYON le -1 OCT 1980

Le Président de l'UNIVERSITE CLAUDE BERNARD
Président du COMITE de COORDINATION
des ETUDES MEDICALES



Pr D. GERMAIN
[Signature]

BIBLIOGRAPHIE *

- 1 - ALTMAN L.C. : Chemotactic lymphokines - A review
in : Leukocyte chemotaxis : methods, physiology and
clinical implications - Ed. J.I.GALLIN and P.G. QUIE -
RAVEN PRESS - NEW YORK - 1978, 267 - 287
- 2a - BACH J.F. : Cellules phagocytaires (chapitre rédigé par
R.M. FAUVE) - in : Immunologie - Ed. Flammarion - 1979,
110 - 129
- 2b - BACH J.F. : Déficits immunitaires (chapitre rédigé par
C. GRISCELLI) - in : Immunologie - Ed. Flammarion - 1979,
826 - 852
- 2c - BACH J.F. : Immunité non spécifique (chapitre rédigé par
R.M. FAUVE) - in : Immunologie - Ed. Flammarion - 1979,
421 - 436
- 2d - BACH J.F. : Le complément (chapitre rédigé par A.P. PELTIER)
in : Immunologie - Ed. Flammarion - 1979, 235 - 265
- 2e - BACH J.F. : Réponses immunitaires vis-à-vis des agents
infectieux et parasitaires (chapitre rédigé par Ph.
LAGRANGE et A. CAPRON) - in : Immunologie - Ed. Flammarion -
1979, 437 - 448
- 3 - BECKER E.L. - SHOWELL H.J. - NACCACHE P.H. - SHA'AFI R. :
Enzymes in granulocyte movement : preliminary evidence
for the involvement of Na⁺, K⁺ ATPase - in : Leukocyte
chemotaxis : methods, physiology and clinical implications -
Ed. J.I.GALLIN and P.G. QUIE - RAVEN PRESS - NEW YORK -
1978, 113 - 121
- 4 - BOUVET E. - VILDE J.L. : Anomalies de l'ingestion et de
la chimiotaxie en pathologie humaine - La Revue de Médecine -
1976, 38, 2087 - 2094
- 5 - BRETON GORIUS J. : Pathologie acquise et congénitale des
granulations des polynucléaires neutrophiles - La Revue
de Médecine - 1976, 38, 2095 - 2104
- 6 - BRONZA J.P. - WARD P.A. : Chemotactic factor inhibitory
activity in rabbit neutrophils - in : Leukocyte chemotaxis :
methods, physiology and clinical implications - Ed. J.I.
GALLIN and P.G. QUIE - RAVEN PRESS - NEW YORK - 1978,
229 - 236

* Une bibliographie sur un sujet aussi vaste ne saurait être exhaustive. Nous choisissons donc de ne citer que les références des publications ayant servi principalement à la composition de cet ouvrage.

- 7 - CATES K.L. - RAY C.A. - QUIE P.G. : Modified BOYDEN chamber method of measuring polymorphonuclear leukocyte chemotaxis - in : Leukocyte chemotaxis : methods, physiology and clinical implications - Ed. J.I. GALLIN and P.G. QUIE - RAVEN PRESS - NEW YORK - 1978, 67 - 71
- 8 - CHENOWETH D.E. - ROWE J.G. - HUGLI T.E. : A modified method for chemotaxis under agarose - J. IMMUNOL. METHODS - 1979, 25, 4, 337 - 353
- 9 - CHEVANCE L.G. : Mouvement ciliaire et immunologie des voies aériennes - in : Volume Thérapeutique des Entretiens de BICHAT - 1978, 270 - 272
- 10 - CLARK R.A. : Disorders of granulocyte chemotaxis - in : Leukocyte chemotaxis : methods, physiology and clinical implications - Ed. J.I. GALLIN and P.G. QUIE - RAVEN PRESS - NEW YORK - 1978, 329 - 356
- 11 - CONGY F. : Les polynucléaires éosinophiles et leurs fonctions - REV. PRAT. - 1979, 29, 7, 681 - 689
- 12a - COQUIN Y. : Phagocytose - I. physiologie - CONCOURS MED. - 1976, 98, 1, 42 - 47
- 12b - COQUIN Y. : Phagocytose - II. pathologie - CONCOURS MED. - 1976, 98, 2, 153 - 158
- 13 - DAO C. - BOUSSER J. - VILDE J.L. : La phagocytose - La Revue de Médecine - 1976, 38, 2057 - 2058
- 14 - DAUBER J.J. - DANIELE R.P. : Chemotactic activity of Guinea pig alveolar macrophages - AM. REV. RESPIR. DIS. - 1978, 117, 4, 673 - 684
- 15 - DECHAVANNE M. - TRZECIAK M.C. - FOLLEA G. - LAGARDE M. : Prostaglandines, prostacyclines et fonctions plaquettaires - LYON MED. - 1979, 241, 2, 101 - 106
- 16 - DESCAMPS B. : Rôle des macrophages dans le rejet des greffes - I. conceptions nouvelles sur leur rôle - NOUV. PRESSE MED. - 1979, 8, 24, 1987 - 1988
- 17 - DUCKERT F. - MARBET G.A. : Poumon, coagulation, fibrinolyse et hemostase - La Revue de Médecine - 1977, 34, 1683 - 1689
- 18 - ETIEVANT M. : Aspects fondamentaux et mécanismes d'activation du complément - REV. FR. MAL. RESPIR. - 1978, 6, 1, 5 - 10
- 19 - FAURE M. : Chimiotaxie du polynucléaire neutrophile - physiologie. aspects pathologiques. sa place dans les processus de la phagocytose (à propos d'une observation d'association de déficit de la chimiotaxie et d'hypergamma-globulinémie E sérique) - Thèse Médecine LYON 1978

- 20 - FERNANDEZ H.N. - HENSON P.M. - OTANI A. - HUGLI T.E. : Chemotactic response to human C3a and C5a anaphylatoxins. evaluation of C3a and C5a leukotaxis in vitro and under simulated in vivo conditions - J. IMMUNOL. - 1978, 120, 1, 109 - 115
- 21 - FERNANDEZ H.N. - HUGLI T.E. : Primary structural analysis of the polypeptide portion of human C5a anaphylatoxin. polypeptide sequence determination and assignment of the oligosaccharide attachment site in C5a - J. BIOL. CHEM. - 1978, 253, 19, 6955 - 6964
- 22 - FOURNIER M. - PARIENTE R. : Le poumon devant l'infection - REV. PRAT. - 1979, 29, 1, 15 - 23
- 23 - FRASER R.G. - PARE J.A.P. : Infectious diseases of the lung - in : Diagnosis of diseases of the chest - Vol. 2 - Ed. W. B. SAUNDERS Company - 1978
- 24 - GALLIN J.I. - CLARK R.A. - GOETZL E.J. : Radioassay of leukocyte locomotion : a sensitive technique for clinical studies - in : Leucocyte chemotaxis : methods, physiology and clinical implications - Ed. J.I. GALLIN and P.G. QUIE - RAVEN PRESS - NEW YORK - 1978, 79 - 86
- 25 - GALLIN J.I. - GALLIN E.K. - MALECH H.L. - CRAMER E.B. : Structural and ionic events during leukocyte chemotaxis - in : Leucocyte chemotaxis : methods, physiology and clinical implications - Ed. J.I. GALLIN and P.G. QUIE - RAVEN PRESS - NEW YORK - 1978, 123 - 141
- 26 - GARRIGUES M. - NEIDHART A. - VANCHE J. : Le surfactant pulmonaire - REV. PRAT. 1980, 30, 7, 273 - 289
- 27 - GOETZL E.J. : Regulation of the polymorphonuclear leucocyte chemotactic response by immunological reactions - in : Leucocyte chemotaxis : methods, physiology and clinical implications - Ed. J.I. GALLIN and P.G. QUIE - RAVEN PRESS - NEW YORK - 1978, 161 - 177
- 28 - GOETZL E.J. - ROCKLIN R.E. : Amplification of the activity of human leucocyte inhibitory factor (LIF) by the generation of a low molecular weight inhibitor of PMN leukocyte chemotaxis - J. IMMUNOL. - 1978, 121, 3, 891 - 896
- 29 - GOLDSTEIN E. - BARTLEMA H.C. : Role of the alveolar macrophage in pulmonary bacterial defense - BULL. EUR. PHYSIOPATH. RESP. - 1977, 13, 1, 57 - 67
- 30 - GOUAULT-HELMANN M. - JOSSO F. : Déclenchement in vivo de la coagulation. rôle des leucocytes et du facteur tissulaire - NOUV. PRESSE MED. - 1979, 8, 40, 3249 - 3253
- 31 - GROSS G.N. - REHM S.R. - PIERCE A.K. : The effect of complement depletion on lung clearance of bacteria - J. CLIN. INVEST. - 1978, 62, 2, 373 - 378

- 32 - GUERIN J.C. - KALB J.C. : Deux années d'immunothérapie ribosomale en pneumologie - LYON MED. - 1979, 242, 19, 613 - 614
- 33 - HAKIM J. - CRAMER E. : Equipement enzymatique et métabolisme du polynucléaire neutrophile pendant la phagocytose - La Revue de Médecine - 1976, 38, 2077 - 2086
- 34 - HAUPTMANN G. : Les déficits héréditaires en complément et leurs manifestations respiratoires - REV. FR. MAL. RESPIR. - 1978, 6, 1, 37 - 48
- 35 - HILL H.R. : Cyclic nucleotides as modulators of leukocyte chemotaxis - in : Leukocyte chemotaxis : methods, physiology and clinical implications - Ed. J.I. GALLIN and P.G. QUIE - RAVEN PRESS - NEW YORK - 1978, 179 - 193
- 36 - HOCKING W.G. - GOLDE D.W. : The pulmonary alveolar macrophage - N. ENGL. J. MED. - 1979, 301, 11, 580 - 587 (110 références)
1979, 301, 12, 639 - 645 (246 références)
- 37 - HUNNINGHAKE G.W. - GALLIN J.I. - FAUCI A.S. : Immunologic reactivity of the lung - the in vivo and in vitro generation of a neutrophil chemotactic factor by alveolar macrophages - AM. REV. RESPIR. DIS. - 1978, 117, 15 - 23
- 38 - JENSEN J.A. - ESQUENAZI V. - CIANCIOLO G. : Antigen-dependent chemotaxis - in : Leukocyte chemotaxis : methods, physiology and clinical implications - RAVEN PRESS - NEW YORK - 1978, 255 - 265
- 39 - KELLER H.U. - HESS M.W. - COTTIER H. : Chimiotaxie du polynucléaire neutrophile - La Revue de Médecine - 1976, 38, 2059 - 2068
- 40 - LAURENT P. - GOUDOT-PATAY B. - GROZEL J.M. : La migration leucocytaire. Etudes quantitatives au lit du malade - ANESTH. ANALG. REANIM. - 1979, 36, 307 - 310
- 41 - LAVILLE M. - REVILLARD J.P. : La protéine C réactive - LYON MED. - 1980, 243, 2, 59 - 68
- 42 - LEBEAU B. - ORVOEN E. - ROCHEMAURE J. : Principaux mécanismes de défense de l'appareil respiratoire contre la pollution - REV. PRAT. - 1976, 26, 33, 2283 - 2290
- 43 - LEDDY J.P. - BAUM J. - ROSENFELD S.I. : Genetic deficiencies of complement-derived chemotactic factors - in : Leukocyte chemotaxis : methods, physiology and clinical implications - Ed. J.I. GALLIN and P.G. QUIE - RAVEN PRESS - NEW YORK - 1978, 389 - 403
- 44 - LEIBOWITCH J. : Le complément en pathologie humaine : les hypocomplémentémies - REV. PRAT. - 1980, 30, 13, 835 - 843

- 45 - MADERAZO E.G. - WORONICK C.L. : A modified micropore filter assay of human granulocyte leukotaxis - in : Leukocyte chemotaxis : methods, physiology and clinical implications - Ed. J.I. GALLIN and P.G. QUIE - RAVEN PRESS - NEW YORK - 1978, 43 - 55
- 46 - MINTA J.O. - WARD P.A. : The complement system of man - in : Inflammation, immunity and hypersensitivity - Ed. H.Z. MOVAT - 1979, 445 - 536
- 47 - MONNET P. : La vaccinothérapie plus ou moins spécifique dans la prévention des infections des voies respiratoires inférieures à rechutes - LYON MED. - 1979, 242, 17, 393 - 395
- 48 - NELSON R.D. - Mc CORNACK R.T. - FIEGEL V.D. : Chemotaxis of human leukocytes under agarose - in : Leukocyte chemotaxis: methods, physiology and clinical implications - Ed. J.I. GALLIN and P.G. QUIE - RAVEN PRESS - NEW YORK - 1978, 25 - 42
- 49 - NIAUDET P. : Exploration de l'immunité chez l'homme. Application aux déficits immunitaires - REV. PRAT. - 1980, 30, 13, 799 - 810
- 50 - O'FLAHERTY J.T. - SHOWELL H.J. - KREUTZER D.L. : Inhibition of in vivo and in vitro neutrophil responses to chemotactic factors by a competitive antagonist - J. IMMUNOL. - 1978, 120, 4, 1326 - 1332
- 51 - PEPYS M.B. : Rapports du complément avec les cellules - REV. FR. MAL. RESPIR. - 1978, 6, 1, 11 - 20
- 52 - PFLIEGER H. - ARNOLD R. - BHADURI S. - BULTMANN B. - GOLDMANN S.F. - HAGHOU F. - KUBANEK B. - KURRLE E. - NIETHAMMER D. : Beneficial effect of granulocyte transfusions in patients with defects in granulocyte function and severe infections - SCAND. J. HAEMATOL. - 1979, 22, 1, 33 - 41
- 53 - PICK E. : Les lymphokines, les messagers hormonaux du système immunitaire - in : Lymphocytes et immuno-allergologie - FISON'S Information Service - 1980, 19 - 31
- 54 - QUIE P.G. - CATES K.L. : Clinical manifestations of disorders of neutrophil chemotaxis - in : Leukocyte chemotaxis : methods, physiology and clinical implications - Ed. J.I. GALLIN and P.G. QUIE - RAVEN PRESS - NEW YORK - 1978, 307 - 328
- 55 - SCHIFFMANN E. - CORCORAN B.A. - ASWANIKUMAR S. : Molecular events in the response of neutrophils to synthetic N-fMET chemotactic peptides : demonstration of a specific receptor - in : Leukocyte chemotaxis : methods, physiology and clinical implications - Ed. J.I. GALLIN and P.G. QUIE - RAVEN PRESS - NEW YORK - 1978, 97 - 111

- 56 - SCHWARTZ L.W. - CHRISTMAN C.A. : Alveolar macrophage migration. influence of lung lining material and acute lung insult - AM. REV. RESPIR. DIS. - 1979, 120, 2, 429 - 439
- 57 - SNYDERMAN R. - PIKE M.C. : Methodology for monocyte and macrophage chemotaxis - in : Leukocyte chemotaxis : methods, physiology and clinical implications - Ed. J.I. GALLIN and P.G. QUIE - RAVEN PRESS - NEW YORK - 1978, 73 - 78
- 58a - SORS H. - EVEN P. : Prostaglandines et poumon. 1ère partie : biosynthèse et catabolisme pulmonaire des prostaglandines - La Revue de Médecine - 1978, 41, 2267 - 2294
(432 références groupées en fin de 1ère partie)
- 58b - SORS H. - EVEN P. : Prostaglandines et poumon : 2ème partie : actions pharmacologiques des prostaglandines et des composés apparentés sur le système respiratoire - La Revue de Médecine - 1979, 10, 527 - 541
- 59 - STOSSEL T.P. : The mechanism of leukocyte locomotion - in : Leukocyte chemotaxis : methods, physiology and clinical implications - Ed. J.I. GALLIN and P.G. QUIE - RAVEN PRESS - NEW YORK - 1978, 143 - 160
- 60 - TURNER S.R. - LYNN W.S. : Lipid molecules as chemotactic factors - in : Leukocyte chemotaxis : methods, physiology and clinical implications - Ed. J.I. GALLIN and P.G. QUIE - RAVEN PRESS - NEW YORK - 1978, 289 - 298
- 61 - VAN EPPS D.E. - WILLIAMS R.C. Jr : Serum inhibitors of leukocyte chemotaxis and their relationship to skin test anergy - in : Leukocyte chemotaxis : methods, physiology and clinical implications - Ed. J.I. GALLIN and P.G. QUIE - RAVEN PRESS - NEW YORK - 1978, 237 - 253
- 62 - VAN FURTH R. - COHN Z.A. - HIRSCH J.G. - HUMPHREY J.H. - SPECTOR W.G. - LANGEWOORT H.L. : The mononuclear phagocyte system : a new classification of macrophages, monocytes, and their precursar cells - BULL. W.H.O. - 1972, 46, 845 - 852
1972, 47, 651 - 658
- 63 - VILDE J.L. - COQUIN Y. : Les déficits de la destruction intracellulaire des microorganismes par les polynucléaires - La Revue de Médecine - 1976, 38, 2105 - 2110
- 64 - VOISIN C. - AERTS C. - TONNEL A.B. : Le macrophage alvéolaire : son rôle dans la défense de l'appareil respiratoire contre l'infection bactérienne et fongique - CONCOURS MED. - 1975, 97, 18, 3137 - 3147

- 65 - WILKINSON P.C. : Les mécanismes de la migration leucocytaire -
La Revue de Médecine - 1977, 6, 279 - 284
- 66 - WILKINSON P.C. - ALLAN R.B. : Assay systems for measuring
leukocyte locomotion : an overview - in : Leukocyte
chemotaxis : methods, physiology and clinical implications -
Ed. J.I. GALLIN and P.G. QUIE - RAVEN PRESS - NEW YORK -
1978, 1 - 24
- 67 - WILKINSON B.J. - PETERSON P.K. - QUIE P.G. : Cryptic
peptidoglycan and the antiphagocytic effect of the
Staphylococcus Aureus capsule : model for the antiphagocytic
effect of bacterial cell surface polymers - INFECT. IMMUN. -
1979, 23, 2, 502 - 508
- 68 - WINKELSTEIN J.A. : La nature et la fonction des opsonines -
La Revue de Médecine - 1976, 38, 2071 - 2076
- 69 - WRIGHT D.G. - GALLIN J.J. : Mechanisms for modulation of
the inflammatory response : generation and inactivation
of C5a by products stored in the granules of human
neutrophils - in : Leukocyte chemotaxis : methods, physio-
logy and clinical implications - Ed. J.I. GALLIN and P.G.
QUIE - RAVEN PRESS - NEW YORK - 1978, 211 - 228
- 70 - ZIGMOND S.H. : A new visual assay of leukocyte chemotaxis -
in : Leukocyte chemotaxis : methods, physiology and clinical
implications - Ed. J.I. GALLIN and P.G. QUIE - RAVEN PRESS -
NEW YORK - 1978, 57 - 66

Nous remercions vivement :

l'INSTITUT PASTEUR DE LYON
avec la collaboration duquel
a été réalisée notre expérimentation

et

les LABORATOIRES INAVA
qui ont bien voulu assurer
l'impression de cette thèse.

